Série A, N° 2221
N° d'ordre :
3092

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

ROGER CAMBAR

1re THÈSE. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES FACTEURS DE LA MORPHOGENÈSE DU MÉSONÉPHROS CHEZ LES AMPHIBIENS ANOURES

2e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 19 juin 1948 devant la Commission d'examen

MM. CAULLERY ..... *Président.*
GALLIEN ..... } *Examinateurs.*
COUTEAUX ..... }

PARIS
Editions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail
—
1948

FACULTÉ DES SCIENCES

Nom du Candidat : **CAMBAR.**
Prénom : **Roger.**

Date de la soutenance : 19 juin 1948.
Numéro d'ordre : 3092.

CAMBAR (Roger). — Recherches expérimentales sur les facteurs de la morphogenèse du mésonéphros chez les Amphibiens Anoures. — *Paris*, Ed. du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique, 1948. In-8°, 72 p., 28 fig., 1 planche.

Th. Sc. Nat. Paris, 1948. Série A, 2221. N° 3092.

CAMBAR (Roger). — Recherches expérimentales sur les facteurs de la morphogenèse du mésonéphros chez les Amphibiens Anoures. — *Paris*, Ed. du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique, 1948. In-8°, 72 p., 28 fig., 1 planche.

Th. Sc. Nat. Paris, 1948. Série A, 2221. N° 3092.

CAMBAR (Roger). — Recherches expérimentales sur les facteurs de la morphogenèse du mésonéphros chez les Amphibiens Anoures. — *Paris*, Ed. du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique, 1948. In-8°, 72 p., 28 fig., 1 planche.

Th. Sc. Nat. Paris, 1948. Série A, 2221. N° 3092.

CAMBAR (Roger). — Recherches expérimentales sur les facteurs de la morphogenèse du mésonéphros chez les Amphibiens Anoures. — *Paris*, Ed. du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique, 1948. In-8°, 72 p., 28 fig., 1 planche.

Th. Sc. Nat. Paris, 1948. Série A, 2221. N° 3092.

Série A, N° 2221
N° d'ordre :
3092

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

ROGER CAMBAR

1re THÈSE. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES FACTEURS DE LA MORPHOGENÈSE DU MÉSONÉPHROS CHEZ LES AMPHIBIENS ANOURES

2e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 19 juin 1948 devant la Commission d'examen

MM. CAULLERY..... *Président.*
GALLIEN..... } *Examinateurs.*
COUTEAUX..... }

PARIS
Editions du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1948

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen..... M. J. CABANNES.

PROFESSEURS

L. BLARINGHEM ..	T	Botanique.
G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
C. MAUGUIN	T	Minéralogie.
A. DENJOY	T	Théorie des fonctions et Topologie.
L. LUTAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
E. DARMOIS	T	Enseignement de Physique.
Robert LÉVY	T	Physiologie comparée.
Henri VILLAT.....	T	Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB	T	Géologie.
P. PASCAL.....	T	Chimie générale.
M. FRÉCHET.....	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.
Mme RAMART-LUCAS.	T	Chimie organique.
FOCH	T	Mécanique Physique et expérimentale.
PAUTHENIER.....	T	Electrotechnique générale.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.
JOB.....		Chimie générale.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.
VILLEY	T	Mécanique appliquée.
COMBES..... ..	T	Physiologie végétale.
GARNIER.....	T	Géométrie supérieure.
PÉRES	T	Mécanique rationnelle.
HACKSPILL	T	Chimie minérale.
LAUGIER.....	T	Physiologie générale.
TOUSSAINT.....	T	Technique aéronautique.
M. CURIE.....	T	Physique (P. C. B.).
G. RIBAUD	T	Hautes températures.
CHAZY	T	Mécanique analytique.
GAULT...	T	Chimie appliquée.
CROZE	T	Physique théorique et Physique céleste.
DUPONT.....	T	Théories chimiques.
VALIRON	T	Calcul différentiel et calcul intégral.
BARRABÉ	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.
VAVON.....	T	Analyse et mesures chimiques.
G. DARMOIS	T	Mathématiques générales
Jacques BOURCART.		Géographie Physique et Géologie dynamique.
AUBEL.....	T	Chimie biologique.
Mme JOLIOT-CURIE.	T	Physique générale et Radioactivité.
PLANTEFOL.....	T	Botanique.
CABANNES	T	Recherches physiques.
GRASSE.....	T	Évolution des êtres organisés.
PRÉVOST.....		Chimie organique.
BOULIGAND.....	T	Application de l'analyse à la Géométrie.
CHAUDRON.....	T	Chimie.
WYART.....		Minéralogie.
TEISSIER.....	T	Zoologie.
MANGENOT.....	T	Biologie végétale.
P. AUGER.....	T	Physique quantique et relativité.
MONNIER		Physiologie générale.
PIVETEAU.....		Géologie.
ROCARD.....	T	Physique.
H. CARTAN.....		Calcul différentiel.
SCHAEFFER	T	Physiologie des fonctions.
LAFFITTE.....		Chimie (P. C. B.).
FAVARD.....		Calcul des Probabilités et Physique-Mathématique.
COULOMB	T	Physique du Globe.
Mlle COUSIN		Biologie animale (P.C.B.).
CHRÉTIEN.....		Chimie (P. C B.).
P DRACH		Zoologie.
KASTLER		Physique.
CHATELET	T	Arithmétique et théorie des nombres.
EPHRUSSI.....	T	Génétique.
WURMSER	T	Biologie physico-chimique.
BAUER.....	T	Chimie-physique.
RIVIÈRE.....		Géologie (P. C. B.).
GAUTHERET.....		Biologie végétale (P. C. B.)
LUCAS.....		Physique.
MAX MORAND		Physique.
ARNULF.....		Optique appliquée.
A. THOMAS.....		Evolution des êtres organisés.
SOLEILLET.....		Physique.
FORTIER		Mécanique expérimentale des fluides.
DANJON.....	T	Astronomie.
FROMAGEOT.....		Chimie biologique.
LAPORTE.....		Physique générale et Radio-activité.
JANET		Mathématiques générales.
PETIT.....	T	Biologie maritime.
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique.
GALLIEN		Biologie animale (P. C. B.).
EICHORN.....		Biologie végétale (P.C.B.).
DE CUGNAC		Biologie végétale (P.C.B.).
LAVAL.....		Physique (P. C. B.).
Mlle CAUCHOIS ...		Chimie Physique.
THELLIER.....		Physique du globe.
AUDUBERT		Electrochimie.
L'HÉRITIER.....		Génétique.

Secrétaire..... ..... CH. MONIER.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LES
FACTEURS DE LA MORPHOGENÈSE
DU MÉSONÉPHROS
CHEZ LES AMPHIBIENS ANOURES

Roger CAMBAR
Chef de Travaux de Biologie animale
à la Faculté des Sciences de Bordeaux.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LES
FACTEURS DE LA MORPHOGENÈSE DU MÉSONÉPHROS
CHEZ LES AMPHIBIENS ANOURES

(Avec 28 figures et 1 planche).

SOMMAIRE

Pages

AVANT-PROPOS 216

INTRODUCTION : BUT ET PLAN DES RECHERCHES 217

PREMIÈRE PARTIE

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

I. ESPÈCES UTILISÉES 219

II. TECHNIQUES D'ÉLEVAGE. 220

III. PRINCIPALES TECHNIQUES OPÉRATOIRES 221

A. Ablations du pronéphros. — B. Opérations pratiquées sur l'uretère primaire.

IV. MÉTHODES D'ÉTUDE DES RÉSULTATS 232

DEUXIÈME PARTIE

LE PRONÉPHROS EXERCE-T-IL UNE INFLUENCE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU MÉSONÉPHROS ? EXPÉRIENCES DE PRONÉPHRECTOMIE

I. BUT DES RECHERCHES 235

II. HISTORIQUE. 236

III. RECHERCHES PERSONNELLES 237

1. *Effets généraux de la pronéphrectomie* 237

2. *Effets de la pronéphrectomie sur le système pronéphrétique.* . . 238

3. *Effets de la pronéphrectomie sur le développement du mésonéphros* . 238

a) Principales expériences pratiquées ; *b*) Le développement normal du mésonéphros ; *c*) Le développement du mésonéphros après pronéphrectomie.

Pages

4. *Le développement du mésonéphros après transplantations précoces du pronéphros.* 245

5. *Le développement du mésonéphros après altération de la capacité fonctionnelle du pronéphros* 245

6. *Conclusion* 246

TROISIÈME PARTIE

LE CANAL DE WOLFF EST L'AGENT INDUCTEUR ESSENTIEL DE LA MORPHOGENÈSE DU MÉSONÉPHROS. MISE EN ÉVIDENCE ET ÉTUDE DU POUVOIR INDUCTEUR

I. HISTORIQUE 246

II. RECHERCHES PERSONNELLES 248

1. *Observations préliminaires* 248

2. *Démonstration expérimentale du pouvoir inducteur du canal de Wolff sur le mésonéphros* 251
a) Ablation totale de l'uretère primaire ; *b*) Isolement d'une portion d'uretère primaire.

3. *Analyse du pouvoir inducteur des diverses parties de l'uretère primaire* 258
a) Déplacement de la partie postérieure de l'uretère primaire ; *b*) Déplacement de la partie antérieure de l'uretère primaire.

4. *Détermination expérimentale de la distance à laquelle peut s'exercer l'action inductrice de l'uretère primaire sur le mésonéphros.* 263

5. *Augmentation du pouvoir inducteur d'un seul côté, par greffe additive d'un second uretère primaire le long d'un conduit normal.* 269

6. *Le pouvoir inducteur de l'uretère primaire peut-il s'exercer sur des cellules de potentialités non néphrétiques* 272

III. CONCLUSIONS 275

QUATRIÈME PARTIE

DISCUSSION GÉNÉRALE 276

RÉSUMÉ 281

BIBLIOGRAPHIE 283

AVANT-PROPOS

Les recherches qui vont être exposées ont été entreprises il y a plus de cinq ans. Les servitudes imposées, les difficultés ou les obstacles accumulés par l'état de guerre rendirent notre travail pénible et lent au cours des premières années. Même la capture des animaux d'expériences soulevait de sérieuses difficultés... En outre, le caractère négatif des résultats des recherches poursuivies pendant les deux premières années ne nous apporta pas cet inappréciable encouragement que constitue l'obtention des premiers faits expérimentaux positifs. Mais l'insuccès n'est-il pas, mieux que la réussite, le meilleur stimulant de la persévérance ?

En fait, après de longs mois de tâtonnements s'édifiait le présent travail, dans des conditions matérielles améliorées.

Notre satisfaction de présenter ce mémoire serait incomplète si nous n'exprimions pas, auparavant, notre reconnaissance à tous ceux qui par leur aide, leur appui ou leurs encouragements en permirent la réalisation.

Mon Maître, M. le Professeur Avel, reçoit en premier lieu l'hommage de mon immense gratitude. Il me confia le sujet de ce travail, sujet qu'il destinait à ses propres recherches. J'ai toujours apprécié cette marque de confiance, parmi toutes celles qu'il m'a accordées depuis lors. Elle constitua un puissant stimulant, et dois-je avouer qu'elle parut parfois bien lourde au débutant que j'étais, dont la seule bonne volonté ne pouvait compenser l'inexpérience.

Mettant à ma disposition toutes les ressources matérielles dont il disposait, il me donna encouragements et conseils. De ceux-ci, j'ai toujours apprécié et admiré la clarté et la compétence en même temps que la cordialité, fruits d'une immense érudition et d'une grande bonté.

Je lui renouvelle ici l'expression de ma profonde et respectueuse reconnaissance.

M. le Professeur Caullery a bien voulu présenter mes notes préliminaires, m'accueillir avec beaucoup de bienveillance et me donner de précieux conseils. Je mesure tout le prix de l'honneur qu'il fait à mon travail en acceptant de présider le jury chargé de le juger. Je le prie d'agréer l'hommage de ma très respectueuse gratitude.

L'accueil que me réserva M. le Professeur Gallien fut particulièrement chaleureux. Il me reçut longuement, écouta mes explications, me conseilla avec une patience et une amabilité auxquelles je suis resté très sensible. Je lui exprime toute ma sincère et déférente gratitude.

Je prie M. le Directeur et le Centre National de la Recherche Scientifique d'agréer mes remerciements pour les subventions qu'ils m'ont accordées et qui m'apportèrent une aide précieuse au cours de mes recherches.

Je ne saurais omettre dans mes remerciements le personnel du laboratoire, et en particulier Mme Tardy, qui prit un soin diligent à la dactylographie de ce travail, ainsi que M. Dagoux qui, avec un inlassable dévouement, me procura pontes et animaux d'expériences.

Il m'est cher enfin de remercier ma femme qui, absorbée par son service

d'enseignement et ses devoirs maternels, consacra de longues heures à m'aider. Elle collabora largement à l'entretien des élevages et au long et fastidieux travail histologique. Je lui exprime toute mon affectueuse gratitude.

INTRODUCTION

But et plan des recherches.

On sait depuis longtemps qu'au pronéphros de la larve d'Amphibiens succède le mésonéphros de l'adulte. Nous possédons des données descriptives nombreuses et précises sur le développement de ces deux reins. En ce qui concerne les modalités physiologiques de leur succession, nos connaissances sont plus restreintes et, jusqu'à ces dernières années, elles étaient presque inexistantes dans le domaine des facteurs de la morphogenèse du mésonéphros.

Nos recherches ont permis d'apporter des résultats substantiels sur ces deux derniers points. Ils sont plus particulièrement étendus sur le second d'entre eux, et font uniquement l'objet du présent travail.

Ce n'est qu'à l'approche de la métamorphose que le pronéphros s'atrophie graduellement, puis disparaît. Seule persiste une faible portion de son matériel cellulaire involué sous forme de l'ostium (Gallien, 1944) [1]. Parallèlement à cette régression le mésonéphros se développe. Il assure seul la fonction excrétrice au moment de la métamorphose.

Le parallélisme entre la croissance du mésonéphros et l'atrophie du pronéphros suggère un rapport de causalité entre les deux phénomènes. Il semble donc que l'ablation précoce du pronéphros, réalisation brusque et prématurée d'un état ultérieur normal, doive provoquer une accélération des phénomènes d'organogenèse du mésonéphros. La présence du pronéphros serait alors inhibitrice de la croissance du mésonéphros, et l'ablation du premier affranchirait ce dernier de l'influence freinatrice qui empêchait ou ralentissait son développement.

Ces réflexions, qui nous furent confiées par notre Maître, M. Avel, furent à l'origine de nos recherches expérimentales.

Dans le but de vérifier cette hypothèse nous avons pratiqué de nombreuses ablations uni- ou bilatérales du pronéphros sur diverses espèces d'Amphibiens Anoures et étudié le retentissement de l'opération sur le têtard, et plus particulièrement le développement ultérieur du mésonéphros. La morphogenèse de ce dernier s'est révélée totalement indépendante du pronéphros. Nous avons confirmé cette conclusion par des transplantations variées du pronéphros.

[1] Dans le même important travail, Gallien (1944) analyse en particulier les rapports anatomiques précoces et tardifs entre le système pronéphrétique (pronéphros et uretère primaire) et l'appareil génital (ostium et crête müllerienne, canal de Wolff).

Diverses interventions ont été pratiquées sur l'uretère primaire (sections à des niveaux variés, ligatures, coudures...) dans le but d'étudier l'action éventuelle de la suppression totale ou partielle, temporaire ou durable, de la capacité fonctionnelle du pronéphros sur la croissance du mésonéphros. Les résultats obtenus (qui ne seront pas développés dans le présent travail) confirmèrent les données précédemment acquises. Le développement du mésonéphros est indépendant de la présence ou de la valeur physiologique du pronéphros.

L'obtention d'un résultat négatif déplace le problème sans le résoudre. Diverses observations ou résultats expérimentaux nous ont conduit à présumer que l'uretère primaire pouvait avoir une influence sur la morphogenèse du mésonéphros. Cette hypothèse fut vérifiée par l'ablation totale précoce de l'uretère primaire. L'absence de ce dernier provoque l'inhibition de la croissance du mésonéphros.

Ce résultat étant acquis, et confirmé par diverses expériences, nous avons consacré une partie importante de notre travail à l'étude du rôle inducteur de l'uretère primaire (et canal de Wolff terminal) sur le mésonéphros. Nous avons précisé les modalités de l'induction au moyen de recherches variées pratiquées sur l'uretère primaire de jeunes larves : extirpation partielle, isolement d'une courte portion du conduit, coudure brusque ou progressive, déplacement par glissement, vers le bas ou vers le haut, de certaines portions, greffes additives simples, doubles ou même triples, en position « directe » ou « inversée », greffes hétérotopiques variées, en divers endroits du corps de l'embryon, etc...

L'uretère primaire et, en particulier, sa portion distale (canal de Wolff) est bien le facteur essentiel de la morphogenèse du mésonéphros.

Les recherches présentées dans ce travail et effectuées au moyen de techniques opératoires entièrement originales apportent un important faisceau de données expérimentales, et permettent de fournir une réponse satisfaisante au problème qui nous était proposé.

Ce dernier n'est pas pour cela entièrement résolu. Il reste à analyser la qualité du pouvoir inducteur mis en évidence.

Mais il ne nous paraît pas que la solution même partielle puisse être désormais obtenue par l'utilisation exclusive des méthodes propres à l'embryologie expérimentale, méthodes pourtant si fécondes, et si claires dans leurs résultats parce que directes. Désormais, la connaissance plus intime du pouvoir inducteur que nous avons décelé et analysé expérimentalement par les techniques embryologiques seules, demande l'emploi adjuvant de méthodes différentes, biochimiques en particulier. Encore ces dernières devront-elles être maniées et leurs résultats interprétés avec prudence.

Des recherches sont en cours à ce sujet.

Terminologie. — Il règne une regrettable confusion et imprécision de termes pour désigner l' « uretère primaire ». chez les auteurs des différents pays.

Nous désignons par *uretère primaire* la totalité du canal drainant le pro-

néphros, et reliant ce dernier au cloaque. C'est la dénomination utilisée par les auteurs récents : Dalcq (1942), Gallien (1944), Van Geertruyden (1946). Nous appelons *canal de Wolff* la portion distale de l'uretère primaire, située en regard du mésonéphros (corps de Wolff), et dans laquelle aboutissent les unités mésonéphrétiques.

Synonymies étrangères d'uretère primaire : archinephric duct, pronephric duct, segmental duct (ce dernier terme est très impropre, puisqu'il implique une formation « segmentaire » du conduit, conception ancienne, erronée et abandonnée) ; Vornierегang ou primärer Harnleiter.

Le nom de canal de Wolff est parfois donné par extension à la totalité de l'uretère primaire.

Notre travail expérimental a été exécuté à des stades précoces, antérieurs à l'apparition du mésonéphros. Nous emploierons donc le terme d'uretère primaire et réservons celui de canal de Wolff pour des stades plus tardifs.

Certes le terme d'uretère évoque une formation toute différente par son origine et son mode de croissance. Pour cette raison l'emploi que nous en faisons peut paraître discutable. Toute confusion nous paraît néanmoins impossible, à la condition de ne pas omettre le qualificatif de « primaire ».

Pour éviter toute ambiguité, nous proposons, avec Gallien, d'employer à l'avenir le terme de *conduit archinéphrétique* (archinephric duct des anciens auteurs de langue anglaise). Deux faits nous paraissent justifier, étymologiquement, cette dénomination : l'apparition très précoce de ce conduit, le rôle capital qu'il exerce au cours de la morphogenèse du mésonéphros (Cambar, 1947).

L'adoption de ce terme éviterait toute confusion.

PREMIÈRE PARTIE

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

I. — Espèces utilisées.

Plusieurs espèces d'Amphibiens Anoures ont été employées au cours de nos recherches, mais d'une façon très inégale suivant les expériences pratiquées ou les buts poursuivis.

Les expériences de pronéphrectomie ont été effectuées sur les embryons et larves des espèces suivantes : Grenouille agile (*Rana dalmatina* Bon.) et Grenouille verte (*Rana esculenta* L.), Crapaud accoucheur (*Alytes obstetricans* Laur.) et Crapaud commun (*Bufo bufo* L.).

Pour tous les types d'expériences, *R. dalmatina* a été beaucoup plus fréquemment utilisée que *R. esculenta* parce que de plus grande taille (longueur de la larve à l'éclosion : 9 millimètres au lieu de 7 millimètres en moyenne). Les larves de Crapaud commun nous ont causé de nombreuses déceptions par suite de leur mortalité notable en cours d'élevage. Elles ont

été délaissées pour cette raison. Enfin, les larves d'Alytes, très résistantes et de grande taille (13-14 millimètres de longueur à l'éclosion) n'ont pu être utilisées pour de nombreuses expériences, leur éclosion ayant lieu à un stade trop avancé du développement.

Toutes nos recherches sur la mise en évidence et l'analyse expérimentale du pouvoir inducteur de l'uretère primaire sur le mésonéphros ont été effectuées sur les embryons et larves de *Rana dalmatina*.

II. — Techniques d'élevage.

Les pontes de *R. dalmatina* et de *Bufo* sont récoltées dans des étangs de la région bordelaise et apportées au laboratoire, en même temps que de l'eau du lieu d'origine. Cette dernière, filtrée, sert à l'élevage des embryons témoins ou opérés. Le développement des pontes s'effectue en aquarium. On note avec soin le moment de l'éclosion spontanée (repère chronologique important). Pour *R. esculenta*, de mœurs beaucoup plus aquatiques que *R. dalmatina*, nous capturons les adultes 15 à 20 jours environ avant l'accouplement (mois de mars) et nous les conservons en captivité, dans un vaste aquarium-terrarium. Les pontes sont nombreuses et d'une récolte aisée. En ce qui concerne *Alytes*, enfin, les mâles porteurs des pontes enroulées autour des pattes postérieures sont conservés en terrarium. Le dépôt de la ponte et l'éclosion s'effectuent au laboratoire. Il nous a paru très difficile, en effet, de conserver en bon état les pontes séparées du Crapaud.

Chaque série d'expériences est effectuée sur les larves d'une seule ponte, soigneusement triées, afin d'éviter, autant qu'il est possible, les variations individuelles initiales.

Les têtards sont d'abord placés dans l'eau filtrée de la mare d'origine, puis dans de l'eau de citerne ou de puits. L'eau des canalisations urbaines peut leur être funeste. Plus tard, à partir de 20-30 jours, ils la supportent sans dommage.

La nourriture se compose de feuilles lavées de salade (laitue). Après cuisson par immersion de 15 minutes dans de l'eau bouillante les feuilles sont aussitôt plongées dans de l'eau froide, et lavées au moins pendant une heure sous un courant d'eau. Le parenchyme foliaire, mieux conservé, reste ainsi plus ferme et sa décomposition dans l'eau d'élevage est plus lente. Ces précautions ont évité le développement de bactéries ou de colonies de protozoaires parasites (Vorticellidés).

Les déchets sont rejetés deux fois par semaine, trois fois pendant la saison chaude. En même temps les récipients d'élevage sont soigneusement brossés et rincés. A cette occasion on distribue de la nourriture en quantité excédant les besoins.

Les larves d'*Alytes* sont nourries dès l'éclosion ; celles de *Rana* et *Bufo* à partir de 6 à 7 jours.

Animaux opérés et témoins sont placés individuellement (ou en nombre égal, dans le cas de groupement) dans des récipients identiques contenant

le même volume d'eau. Ils sont traités et conservés dans les mêmes conditions.

A l'approche de la métamorphose (sortie des pattes antérieures) les animaux opérés et témoins deviennent fragiles. On place alors un disque de papier buvard au fond du cristallisoir. Ce dernier est incliné et ne contient que peu d'eau dans sa partie basse. L'animal peut ainsi émerger temporairement à son gré, et s'adapter de façon progressive à la vie aérienne. Dès que la queue est résorbée, l'eau du cristallisoir est supprimée et le récipient disposé horizontalement. On recouvre le fond d'un disque de papier buvard épais, maintenu humide. Une plaque de verre recouvre le cristallisoir.

Les jeunes Grenouilles ou Crapauds sont nourris de Drosophiles, élevées au laboratoire sur milieu au vinaigre de Guyénot, et provenant d'une souche sauvage. Nous n'avons jamais conservé de très nombreux individus après la métamorphose. Aussi l'élevage a-t-il été conduit à l'échelle individuelle. Dans les cas où il deviendrait nécessaire d'élever un groupe important d'animaux, il serait avantageux d'adopter la technique utilisée avec succès par Gallien (1944).

III. — Principales techniques opératoires.

Toutes les opérations sont effectuées sous la loupe binoculaire (Leitz). Grossissements les plus utilisés : 20 et le plus souvent 30 (exceptionnellement 60).

Appareil d'éclairage : forte lampe placée obliquement et deux petites lampes, dites « Mignon » (Leitz), solidaires de la loupe, une de chaque côté de l'axe optique. Deux commutateurs, l'un au pied, l'autre à la main, commandent les diverses combinaisons d'éclairage.

Les instruments sont placés dans de larges boîtes plates (grandes boîtes vitrées pour collection d'insectes) dont le fond est recouvert d'une couche d'ouate. Elles sont inclinées vers l'opérateur afin de faciliter le choix, la prise ou le dépôt des instruments en cours d'opération.

L'aiguisage des divers instruments s'effectue suivant la technique décrite par Avel (1929).

A. — *Techniques d'ablation du pronéphros.*

Nous avons pratiqué plus de 1.600 pronéphrectomies sur des embryons ou larves d'espèces et d'âges différents.

La technique varie suivant l'âge de l'embryon ou de la larve. Nous allons exposer la méthode utilisée aux principaux stades suivants :

a) aux stades de neurula avancée et du bourgeon caudal (*R. dalmatina*) ;

b) au moment de l'éclosion spontanée (*R. dalmatina*, *R. esculenta*, *Bufo*) ;

c) pendant la période comprise entre 2-3 jours et 30-40 jours après l'éclosion (*R. dalmatina*, *R. esculenta*, *Alytes*, *Bufo*) ;

d) au delà de 30-40 jours après l'éclosion (*R. dalmatina*, *Alytes*).

Outre leur intérêt pour la pratique de la pronéphrectomie, ces diverses techniques (les deux dernières en particulier) nous paraissent pouvoir être utilisées pour la microchirurgie générale des larves d'Amphibiens.

a) **Pronéphrectomie aux stades de neurula avancée ou du bourgeon caudal.**

L'embryon est dégangué, au moyen d'aiguilles, sous une faible couche d'une solution physiologique diluée (1) placée dans une boîte de Pétri. Il est transporté, dans une pipette, sur un petit carré de papier-filtre fin, largement humidifié par la solution physiologique diluée (Cp 1/7).

L'opération est effectuée : soit au stade de neurula avancée (fermeture prochaine du tube neural, les bourrelets médullaires étant très rapprochés), longueur totale : 2,9 millimètres, stade 15 de Shumway (1940-1942), établis sur *Rana pipiens*; soit, le plus souvent, au stade de bourgeon caudal, longueur totale : 4 millimètres, stade 18 de Shumway.

Dans les deux cas, on extirpe le territoire pronéphrétique formé par un épaississement somatopleural au niveau des somites 3, 4, 5. Sur la neurula, le territoire présomptif est mal délimité (ainsi que sur les 3-4 premiers somites), et parfois son ablation est incomplète, ainsi que le montre l'étude histologique ultérieure du pronéphros. Par contre, il est aisé de préciser la localisation topographique de l'ébauche pronéphrétique au stade du bourgeon caudal, les premiers somites étant

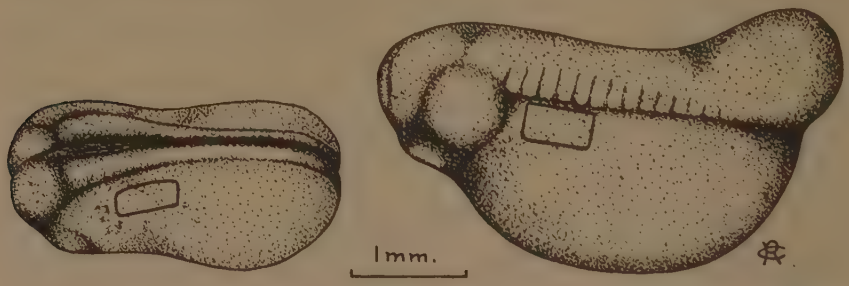


Fig. 1. — Stades embryonnaires auxquels fut effectuée la pronéphrectomie (*Rana dalmatina*). — *A gauche :* neurula avancée; *à droite :* bourgeon caudal. La partie encadrée représente l'emplacement de l'ébauche pronéphrétique.

nettement distincts, au nombre de 12 environ (voir fig. 1). De plus, un léger gonflement de l'ectoderme indique la place de l'ébauche.

Après incision et décollement de l'ectoderme, on extirpe le blastème pronéphrétique au moyen d'aiguilles et de pinces très fines.

L'embryon est transporté, sur son support, dans la solution physiologique déjà utilisée, Cp 1/7 (Avel).

En cas d'ablation bilatérale, dès la cicatrisation terminée (2 heures au maximum), l'embryon est opéré de la même façon, de l'autre côté. Dans tous les cas, on attend que la cicatrisation soit parfaite pour replacer les embryons opérés dans l'eau d'élevage (eau de mare filtrée).

(1) La solution physiologique utilisée au cours de toutes nos recherches est du type Ringer simplifié, pour invertébrés, soit :

Chlorure de sodium	7 gr.
Chlorure de calcium	0,20 »
Chlorure de potassium	0,15 »
Eau distillée	1.000 cm³

Elle est obtenue extemporanément par dilution de solutions mères (Avel).

Adoptant un mode d'expression déjà utilisé, nous appelons cette concentration normale : concentration physiologique. Nous la désignons par l'abréviation Cp. Toute dilution est représentée par une expression fractionnaire de la concentration physiologique normale (dilution la plus utilisée : Cp 1/7).

b) Pronéphrectomie à l'éclosion (plus précisément pendant les deux jours qui précèdent ou qui suivent l'éclosion spontanée).

Longueur totale des embryons et larves de *R. dalmatina* : 8,5-9,5 mm et *R. esculenta* : 6,5-7,2 mm.

Les embryons dégangués ou les larves spontanément écloses sont transportés dans une pipette et placés sur un carré de papier-filtre fin, humidifié avec la solution physiologique (Cp 1/7).

L'ablation s'effectue sans anesthésie.

L'emplacement du pronéphros est facilement décelé par un renflement ectodermique au bord ventral des premiers somites, entre ces derniers et l'alignement des branchies externes. On pratique une incision ectodermique dorso-ventrale (fig. 2, *i*), immédiatement en arrière du renflement pronéphrétique (*pr*) et de même étendue que ce dernier. Par cette incision, on sectionne l'uretère primaire (*up*), puis, au moyen de fines aiguilles de verre, coudées à l'extrémité, on libère le pronéphros. On enlève enfin ce dernier avec des pinces fines.

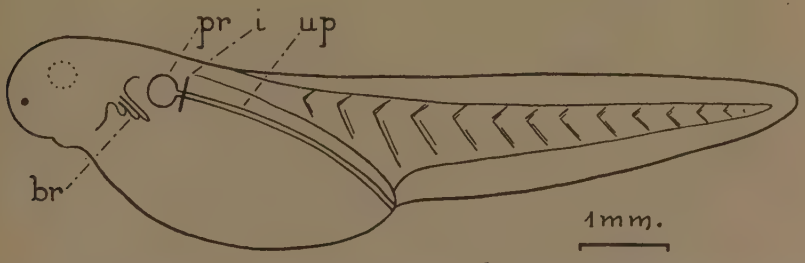


Fig. 2. — Ablation du pronéphros au moment de l'éclosion (*Rana dalmatina*). *br*, branchies externes; *i*, incision ectodermique; *pr*, pronéphros; *up*, uretère primaire.

En cas d'ablation bilatérale, on humidifie largement le support par quelques gouttes de solution physiologique Cp 1/7, puis on retourne avec précaution le têtard au moyen de petites pelles de verre (petit fragment rodé de lamelle de verre, soudé par fusion ménagée de sa base à un tube de verre effilé à l'extrémité). On pratique alors l'ablation de l'autre pronéphros. Après l'opération, le têtard est transporté, sur son support, dans la solution physiologique diluée, où il séjourne 2 heures au maximum, pendant la durée de la cicatrisation. On replace enfin le têtard dans l'eau d'élevage.

La mortalité post-opératoire immédiate est nulle, même après pronéphrectomie bilatérale.

c) Pronéphrectomie pendant la période comprise entre 2-3 jours et 30-40 jours après l'éclosion pour *R. dalmatina* et *R. esculenta*, et entre l'éclosion et 20-25 jours pour *Alytes*.

Longueur totale moyenne des têtards : *R. esculenta* : entre 7,2 et 17-18 millimètres; *R. dalmatina* : entre 9,5 et 19-20 millimètres; *Alytes obstetricans* : entre 13-14 et 20-21 millimètres.

Au fur et à mesure que les têtards deviennent plus âgés, la technique opératoire devient d'une réalisation de plus en plus délicate. Plusieurs causes sont à invoquer : résistance accrue des téguments, situation plus

profonde du pronéphros, encombrement du champ opératoire par divers organes, importance accrue des hémorragies.

Une technique entièrement nouvelle doit être utilisée.

Principe. — Quelle que soit la qualité de l'outil coupant employé, il est très difficile, et toujours hasardeux, d'essayer de pratiquer avec sûreté une incision épidermique, de localisation précise et d'étendue bien limitée, l'épiderme des larves d'Amphibiens étant à la fois résistant et glissant par suite de la présence de mucus. Or, le succès de la pronéphrectomie repose en premier lieu sur la situation et l'étendue de l'incision : trop courte ou mal située elle rend l'ablation difficile et imprécise, trop longue elle provoque des hernies irréductibles de certains organes. Au moyen d'une fine aiguille (type « minutie » aiguisée) reliée à un générateur de courants à haute fréquence (1) (diathermo-coagulation) nous pratiquons par deux micro-brûlures deux petits orifices dans l'épiderme, limitant la ligne d'incision désirée. Cette dernière est obtenue en reliant les deux orifices initiaux. Elle est située immédiatement en arrière de la chambre branchiale.

L'ablation du pronéphros par électro-coagulation est mal supportée par les jeunes têtards de *Rana*, ou même d'*Alytes*. Malgré ses avantages (opération rapide et aseptique, hémorragie minime) cette technique ne peut être pratiquée que sur des larves âgées. Un appareil mieux adapté aux exigences de la micro-chirurgie permettrait, sans doute, un plus large emploi de cette technique. Nous pensons que cette amélioration sera possible dans un avenir prochain. La pronéphrectomie est donc pratiquée par les méthodes ordinaires, le têtard étant plongé, pour plus de facilité et de sécurité, dans le liquide physiologique : distinction aisée des organes, hémorragies faibles.

L'opération s'effectuant en deux temps successifs, d'abord à sec (brûlures et incision), puis sous liquide physiologique (ablation), nécessite donc un dispositif particulier, auquel s'ajoutent des instruments spéciaux (écarteurs) destinés à libérer le champ opératoire.

Outillage. — Détail de la technique : fig. 3 et 4. La table d'opération est un disque de liège épais (*pl*), percé en son centre d'un orifice recevant un godet de verre (*rv*) de même hauteur. Au fond du godet est collée, par de la paraffine, une plaque de liège mince et paraffinée (*plp*). On fixe sur cette dernière une plaque électrode d'étain (*pe*), reliée au générateur électrique par une pince (*p*) et percée de petits orifices. Ceux-ci permettent de fixer sur l'électrode un petit support de liège mince (*st*), épinglé au liège sous-jacent. Ce support possède une dépression destinée à recevoir le têtard anesthésié couché sur un côté. Plusieurs supports sont nécessaires, la cavité devant être proportionnée à la taille du têtard. La queue de la larve déborde largement et établit le contact avec l'électrode.

Le champ opératoire étant souvent encombré par divers organes : poumons, anses intestinales, lobes du foie, vésicule biliaire, il est nécessaire de s'adjoindre de petits instruments autonomes (écarteurs) servant à écarter les lèvres de l'incision et à éloigner les organes masquant le pronéphros.

La fabrication des divers types d'écarteurs plats a été longuement exposée (Cambar, 1943). Nous y renvoyons le lecteur (voir une illustration, fig. 8, C). Rappelons simplement qu'il s'agit d'une petite plaque de verre portant une poignée de liège et un fil de verre fin (bras) à l'extrémité duquel (tête) se trouve soudé

(1) Il s'agit d'un générateur employé en petite chirurgie humaine. Nous n'utilisons que sa puissance minimum.

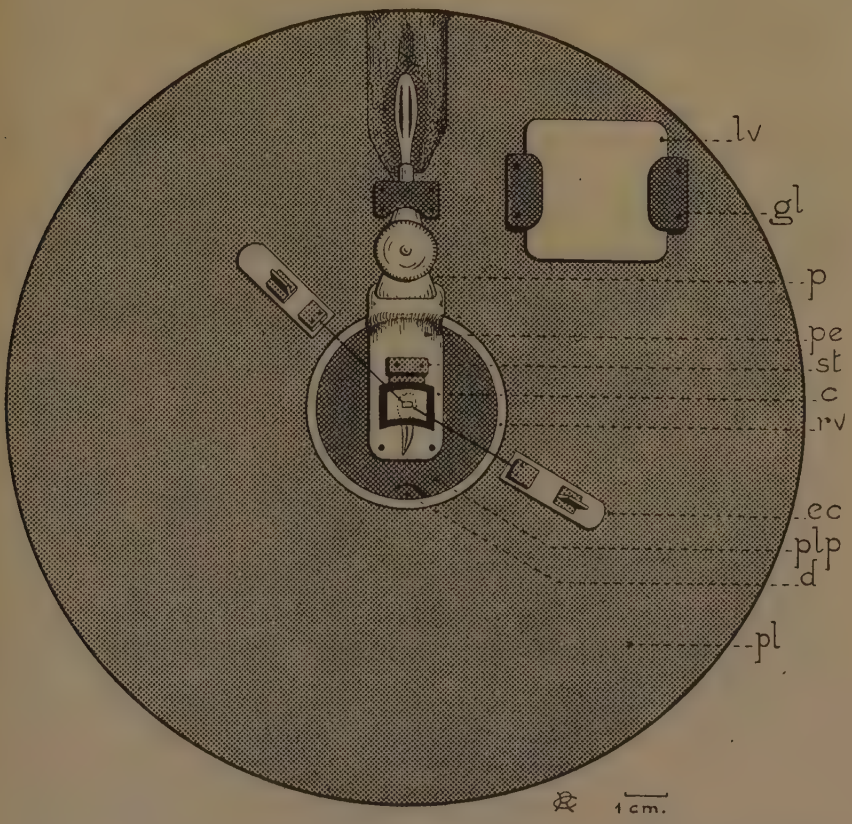
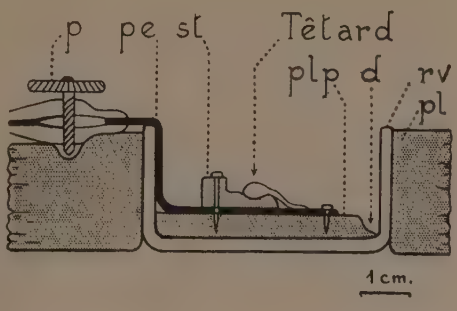


Fig. 3. — Table d'opération pour ablation du pronéphros peu après l'éclosion (*Rana*, *Alytes*).

c, couverture opératoire; *d*, dépression du support de liège (écoulement de la solution physiologique); *ec*, écarteur à rotule; *gl*, glissière de liège; *lv*, lame de verre (dépôt de la couverture *c*); *p*, pince électrique; *pe*, plaque électrode d'étain; *pl*, plaque de liège; *plp*, plaque de liège paraffiné; *st*, support pour le têtard; *rv*, récipient de verre.

Fig. 4. — Table d'opération pour ablation du pronéphros, peu après l'éclosion (coupe longitudinale de la fig. 3).

d, dépression du support de liège (écoulement de la solution physiologique); *p*, pince électrique; *pe*, plaque électrode d'étain; *pl*, plaque de liège; *plp*, plaque de liège paraffiné; *rv*, récipient de verre; *st*, support pour le têtard.



un crochet, ou une boucle ou une palette. Ce type d'écarteur a dû être modifié dans le cas présent. Pour permettre l'emploi du bras dans n'importe quelle position, nous l'avons articulé sur rotule (écarteur plat à rotule).

Schéma du montage (voir fig. 5) de ce nouveau type d'écarteur :

a) Entaille horizontale profonde dans un cube de liège compact (6 mm. de côté);

b) Taille d'un biseau le long de la ligne de section;

c) Écartement des deux parties (en pointillé : futur logement de la rotule);

d) Fusion de l'extrémité du bras de l'écarteur et formation d'une boule (rotule). Encore chaude, celle-ci est placée dans la position indiquée en pointillé (*c*). Par simple pression et par brûlure ménagée du liège, elle prend sa place normale (*d*);

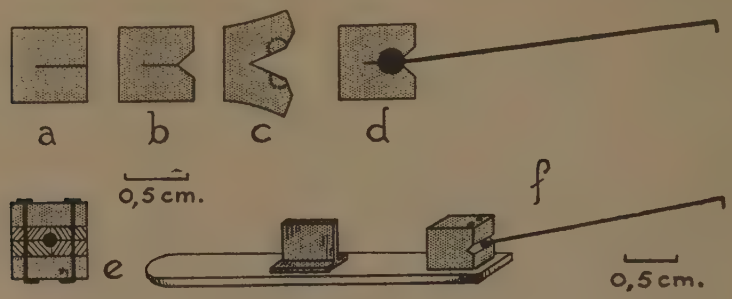


Fig. 5. — Schéma de montage de l'écarteur à rotule.

a, *b*, *c* et *d*, coupe longitudinale; *e*, vue de face; *f*, vue perspective; *a*, section incomplète du cube de liège; *b*, découpage du biseau; *c*, écartement des deux bords de l'incision (en pointillé : futur logement de la rotule); *d*, mise en place de la rotule chaude; *e*, la rotule est maintenue en place par deux agrafes métalliques (vue de face); *f*, l'écarteur terminé.

e) (vue de face). Deux fines agrafes métalliques maintiennent la rotule dans son logement sous pression convenable;

f) L'écarteur terminé. Poignée et bloc de liège portant la rotule sont fixés au support par de la cire.

Le têtard est anesthésié dans une solution aqueuse d'éther à 1 o/o, maintenue fraîche, pendant une durée variable suivant la taille (de 3 à 10 minutes). Ensuite il est transporté, dans une pipette, sur le support de liège et placé sur le côté.

L'incision épidermique est effectuée en reliant, au moyen de ciseaux à ressort, les deux microbrûlures préalablement pratiquées. L'incison est située latéralement, immédiatement en arrière de la limite de la chambre branchiale. Chez *Alytes*, en particulier, deux nerfs superficiels constituent un repère précis (voir fig. 9).

Avant d'immerger le têtard dans la solution physiologique en vue de la pronéphrectomie, il est indispensable qu'il soit fixé sur son support par un artifice, sinon il serait déplacé au moindre attouchement en cours d'opération. Dans ce but, on place sur le têtard une couverture de papier filtre percée d'un orifice central, et rendue pesante par une armature faite d'une feuille mince d'étain (capsule). Voir le schéma du montage, fig. 6 :

a) Découpage de la feuille d'étain;

b) Superposition de la feuille de papier-filtre (perforée au centre) et de la feuille d'étain : 1 et 2, emplacement des deux plis successifs destinés à assujettir les deux feuilles;

c) Couverture terminée, prête à l'emploi (tournée sur l'autre face par rapport à *b*).

On imprime à cette couverture une courbure lui permettant d'être, à la fois,

appuyée sur le corps du têtard, et juste au contact du support de chaque côté du corps, afin d'éviter les balancements. Cette courbure est modifiée d'après la taille du têtard. Après usage, la couverture est déposée sur un support de verre (*lv*), maintenu par des glissières de liège (*gl*), voir fig. 3.

La couverture est placée sur le têtard, son orifice médian encadrant l'incision. On verse lentement la solution physiologique (Cp 2/7) jusqu'à ce que la couverture opératoire soit complètement recouverte. Au moyen d'écarteurs à palette (deux ou trois en général), on écarte les lèvres de la plaie et on libère en même temps le champ opératoire des organes gênants (fig. 3). On décolle progressivement le pronéphros au moyen de microscalpels (voir fig. 8, A) [1] et de pinces fines, puis on l'enlève après section de l'uretère primaire. L'hémorragie, immédiatement assez importante (section des veines cardinales) est vite arrêtée. Après 2 à 3 minutes, on enlève avec précaution les caillots hémorragiques.

Le têtard est transporté à la pipette, dans la solution physiologique (Cp 2/7) où il séjourne pendant que cicatrise la plaie, 1 à 5 jours suivant l'âge du têtard. Le récipient est placé dans un bac où circule un courant d'eau continu, afin d'éviter les brusques élévations de température fatales aux larves opérées. Le têtard est enfin replacé dans les conditions normales d'élevage.

Dans le cas de pronéphrectomie bilatérale, dès la première ablation terminée, on tourne le têtard avec précaution sur l'autre côté (emploi de petites pelles de verre). Avec une pipette, on aspire la solution physiologique qui se rassemble dans la dépression (*d*) du liège paraffiné (voir fig. 3 et 4). On recommence la technique déjà décrite : microbrûlures, incision, couverture opératoire....

La mortalité post-opératoire est pratiquement nulle chez *Alytes*. Elle est, au maximum, de l'ordre de 10 o/o chez *Rana*.

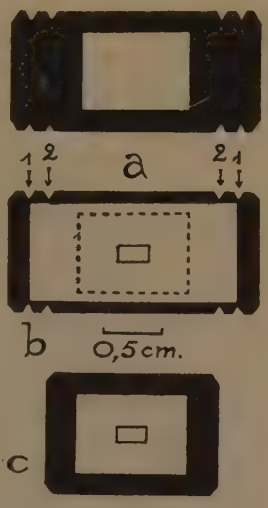


Fig. 6. — Schéma de montage de la couverture opératoire.

a, découpage de la feuille d'étain; *b*, superposition de la feuille de papier - filtre (perforée au centre) et de la feuille d'étain; 1 et 2, emplacement des deux plis successifs destinés à réunir les deux feuilles; *c*, couverture terminée, prête à l'emploi (retournée par rapport à *b*).

d) Pronéphrectomie chez des têtards âgés (stades plus tardifs que ceux décrits au paragraphe précédent).

La technique qui vient d'être exposée peut être utilisée au delà des stades limites précédemment indiqués, soit : 20-21 millimètres pour *Alytes*, 19-20 millimètres pour *R. dalmatina*, 17-18 millimètres pour *R. esculenta*, bien que le pronéphros devienne d'une accessibilité plus difficile et que les hémorragies graves soient plus fréquentes.

Pour ces raisons, il devient avantageux d'effectuer l'ablation par électrocoagulation uniquement. Le pronéphros est alors détruit par brûlures successives. Ainsi, il est possible de supprimer ou atténuer fortement les accidents hémorragiques et l'opération gagne en rapidité.

Néanmoins, malgré ces avantages, nous n'avons exclusivement utilisé l'ablation électrique que chez les têtards d'*Alytes* (à partir de 20-21 mm.). En effet, les larves

[1] Ils sont fabriqués avec des fragments de lames de rasoir (Avel) convenablement meulées et fixées sur des manches de verre creux au moyen de cire (voir Cambar, 1943).

de *Rana*, même âgées, supportent moins bien ce traitement. Elles y furent moins souvent soumises, la technique décrite au paragraphe précédent continuant à leur être appliquée le plus souvent.

L'ablation par électrocoagulation, uni- ou bilatérale, a déjà été minutieusement décrite (Cambar, 1943). Afin d'alléger l'exposé, nous y renvoyons le lecteur, nous bornant ici à en donner un résumé et une illustration.

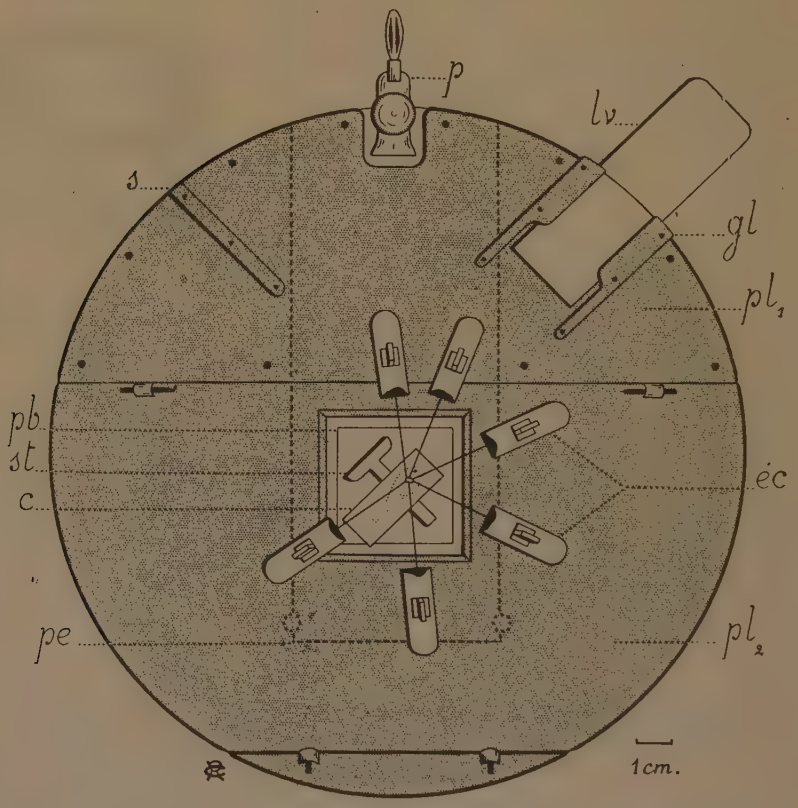


Fig. 7. — Table d'opération pour ablation du pronéphros (stades tardifs).

c, couverture opératoire; *ec*, écarteurs plats; *gl*, glissière de liège; *lv*, lame de verre servant à déposer la couverture humide *c*; *p*, pince électrique; *pb*, papier buvard; *pe*, plaque électrode d'étain; pl_1, pl_2, plaques de liège; *s*, support pour écarteurs; *st*, support pour le têtard.

Le têtard est anesthésié dans une solution aqueuse d'éther à 2 o/o, maintenue fraîche, pendant 6 à 10 minutes suivant que l'ablation est uni- ou bilatérale.

Voir fig. 7. Un disque de liège constitue la table d'opération. On fixe sur celle-ci une plaque d'étain électrode (*pe*). Cette dernière est recouverte de deux plaques de liège mince, pl_1 et pl_2. La seconde seule est amovible grâce à un jeu de crochets et d'agrafes, afin de permettre un nettoyage aisé, nécessaire et fréquent, de la plaque électrode. La pince (*p*) relie l'électrode au générateur de courants à haute fréquence par un fil souple.

Par l'orifice carré pratiqué dans la plaque de liège (pl_2) on superpose sur l'élec-

trode quelques feuilles de papier buvard humide (*pb*), puis un support de liège (*st*) destiné à recevoir le têtard au niveau d'une légère dépression (voir également fig. 8, D et *d*). Le têtard est recouvert d'une couverture opératoire (*c*) percée d'un orifice (voir également fig. 8, E et *or*).

Par ce dernier s'effectue l'ablation.

Divers instruments ont dû être imaginés et construits (voir fig. 8) :

—.des microscalpels (A) : fragments de lame de rasoir meulés, fixés à des man-

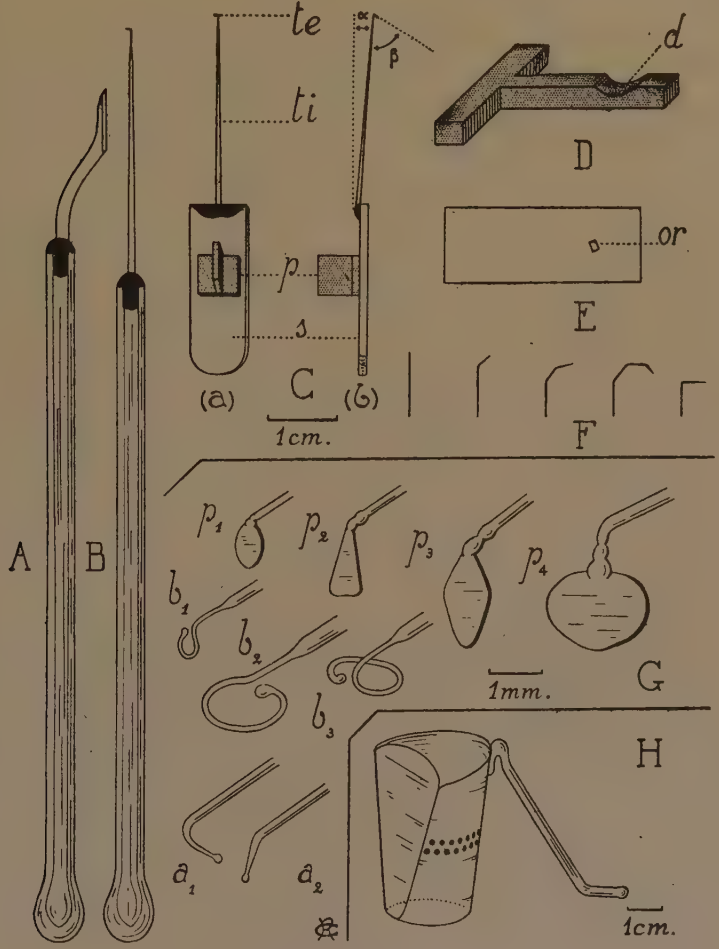


Fig. 8. — Instruments destinés à la pronéphrectomie.

A, type de microscalpel; B, écarteur rond; C, écarteur plat : (a) dans sa position normale; (b) de profil; α et β, angles d'inclinaison; *p*, poignée; *s*, support; *te*, tête; *ti*, tige; D, support pour le têtard; *d*, dépression; E, couverture opératoire : *or*, orifice; F, électrodes diversement coudées. G, quelques types de tête d'écarteurs : p_1 à p_4, palettes (p_4, la plus grande taille utilisée), b_1 à b_3, boucles (b_2, même remarque que pour p_4), a_1 et a_2, crochets; H, appareil de transport pour les têtards.

ches de verre creux au moyen d'une gouttelette de cire. Ils servent à terminer et à parfaire l'incision;

— des écarteurs ronds (B) : tige de verre effilée, terminée par un crochet (même fixation que le microscalpel). Ils aident à dégager le champ opératoire suivant les besoins;

— des écarteurs plats (C et G) : constitués par un support de verre (*s*), une poignée (*p*), une tige de verre effilée (*ti*) terminée par une tête de formes diverses (*te*).

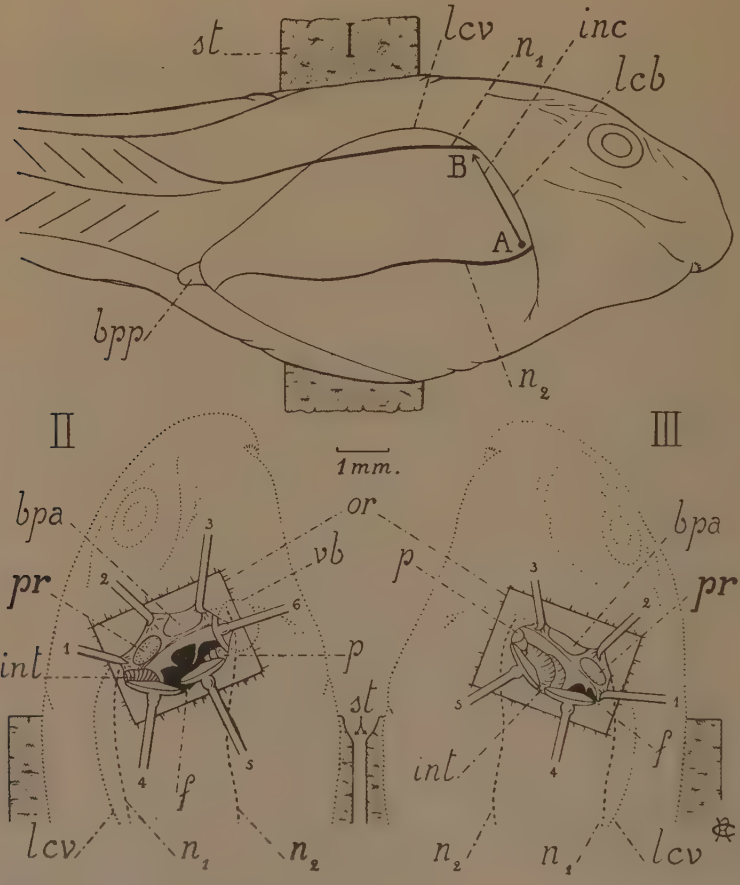


Fig. 9. — Schéma de l'ablation du pronéphros chez un têtard d'*Alytes* (22 mm. de longueur, 30 jours).

I, trace de l'incision (AB); II et III, aspect au moment de l'ablation : du côté droit (II), du côté gauche (III) : *bpa*, bourgeon de la patte antérieure; *bpp*, bourgeon de la patte postérieure; *f*, lobes du foie; *inc*, trace de l'incision (AB); *int*, intestin; *lcb*, limite de la cavité branchiale; *lcv*, limite de la cavité viscérale. n_1, n_2, nerfs superficiels; *or*, orifice de la couverture opératoire; *p*, poumons; *pr*, *pronephros*; *st*, support pour le têtard; *vb*, vésicule biliaire; 1, 2, 3, écarteurs à crochet; 4, 5, 6, écarteurs à palette; 6, écarteur spécial pour la vésicule biliaire *vb*.

La tête de l'écarteur peut présenter trois formes différentes (fig. 8, G) : des palettes de taille variée (p_1 à p_4), des boucles diversement orientées (b_1 à b_3), des crochets plus ou moins fermés (a_1 et a_2). Le choix de l'écarteur est fonction de l'emploi projeté : les crochets servent uniquement à tenir la plaie largement ouverte, les boucles ou les palettes sont utilisées pour écarter, soutenir ou contenir les organes encombrants.

— Un appareil de transport pour les têtards (H) : capsule d'étain portant un manche, percée d'orifices à mi-hauteur, dans laquelle le têtard peut séjourner sans risque de blessure ou d'évasion. Cet appareil est très utile pour capturer et contenir les têtards lors du nettoyage des cristallisoirs.

Nous avons enfin employé des pointes électrodes très fines (F) diversement coudées. Ce sont des aiguilles du type « minutie » aiguisées et montées sur mandrin.

La fabrication de ces divers instruments a demandé la mise au point de techniques spéciales qui sont longuement décrites dans le travail précité (Cambar, 1943).

L'aiguisage de certains d'entre eux (microscalpels) utilise la technique décrite par Avel (1929).

La figure 9 illustre schématiquement l'opération elle-même :

I. — Lieu de l'incision épidermique pratiquée avec des ciseaux à partir d'une microbrûlure de l'épiderme en A, et terminée au moyen de microscalpel (incision du feuillet viscéral).

II et III. — Pratique de l'ablation, respectivement à droite et à gauche.

Le pronéphros, préalablement asséché, est détruit à sec, par brûlures successives (1). Les écarteurs de divers types servent à libérer le champ opératoire. Toute l'ablation s'effectue à travers l'orifice ménagé dans la couverture opératoire.

Après l'opération, le têtard est placé dans la solution physiologique déjà utilisée (Cp 1/2) pendant 5 jours, durée maxima de la cicatrisation. Il est nécessaire d'éviter pendant ce temps les fortes élévations de température, ainsi que tout mouvement violent. Le têtard est enfin replacé dans l'eau d'élevage.

Le taux de mortalité post-opératoire a été nettement amélioré par rapport à celui indiqué dans notre ancien travail (1943). Il ne dépasse pas 12-15 o/o dans le cas d'ablation bilatérale.

B. — *Opérations diverses pratiquées sur l'uretère primaire.*

Deux groupes distincts d'opérations ont été effectuées sur l'uretère primaire. Le matériel utilisé consiste exclusivement en embryons ou larves de *Rana dalmatina*.

Dans le premier groupe, nous plaçons les diverses interventions pratiquées au niveau de la partie proximale de l'uretère primaire. Leur but est de réduire ou supprimer, pour une durée variable, le pouvoir excréteur du pronéphros, et de rechercher ensuite le retentissement éventuel des modifications de l'état fonctionnel du système pronéphrétique sur la morphogenèse du mésonéphros situé du même côté.

C'est ainsi que nous avons pratiqué :

— La coudure de la portion de l'uretère primaire voisine du pronéphros (le

(1) Des précautions particulières doivent être prises : ne pas établir le contact avant que l'électrode soit placée sur l'organe à détruire, sinon on inflige au têtard des secousses violentes, nuisibles à l'anesthésie; opérer avec des microbrûlures de très courte durée (temps minimum de passage du courant par simple contact avec le commutateur), des applications plus prolongées produisant une électrocoagulation en profondeur très nécrosante. Pour les sujets jeunes, une ou deux brûlures suffisent, cinq à six sont nécessaires chez les sujets plus âgés; opérer toujours à sec au moment des brûlures pour éviter toute irradiation calorifique.

reste du conduit demeurant en position typique), après déplacement du pronéphros en direction postérieure.

— L'oblitération temporaire de l'uretère primaire, au moyen d'une ligature pratiquée avec un fil résorbable (fil de soie du cocon de *Bombyx* (Cambar, 1944).

— L'ablation, à différents niveaux, d'une portion d'étendue variable de l'uretère primaire. Cette ablation provoque la suppression du pouvoir fonctionnel du pronéphros soit temporairement (la partie enlevée régénère si l'ablation n'affecte qu'une courte portion du conduit), soit définitivement, dans le cas contraire.

Ces diverses opérations ont été pratiquées au moment de l'éclosion spontanée.

Les résultats obtenus n'offrent pas un intérêt particulier en ce qui concerne l'objet du présent mémoire; ils sont absolument comparables à ceux décrits après pronéphrectomie. Aussi les techniques opératoires ne seront-elles pas décrites dans ce travail; elles seront exposées dans une publication ultérieure.

Dans le second groupe, nous plaçons toutes les expériences pratiquées sur l'uretère primaire, et destinées à étudier le pouvoir inducteur de ce conduit sur les blastèmes mésonéphrogènes.

Ces opérations ont été également effectuées sur *Rana dalmatina*, mais très précisément au stade suivant : pendant les 12 heures qui précèdent l'éclosion spontanée. A ce moment, le conduit possède une résistance suffisante pour pouvoir être tiré par une extrémité sans se déchirer. De plus, il est encore sans liens solides avec les tissus environnants. Déterminé par tâtonnements, ce stade privilégié a été choisi pour la réalisation de la plupart des expériences.

Le têtard est placé pendant l'opération sur un papier buvard largement imbibé de solution physiologique. Après l'opération, il subit le traitement normal; contact de 2 heures dans une solution physiologique diluée (Cp 1/7). Aucune anesthésie n'est nécessaire.

Au stade précisé plus haut, nous avons effectué successivement diverses expériences destinées à déceler, confirmer et analyser le pouvoir inducteur de l'uretère primaire sur le mésonéphros adjacent. Nous ne séparerons pas l'exposé des techniques opératoires des résultats qu'elles nous ont permis d'obtenir, et qui représentent les acquisitions les plus importantes de notre travail.

C'est pourquoi le lecteur les trouvera présentées dans la troisième partie de ce mémoire, se succédant d'après leur enchaînement logique, qui est également l'ordre de leur réalisation pratique.

IV. — Méthodes d'étude des résultats.

1. — *Autopsies.*

Sans anesthésie l'animal est plongé dans le fixateur de Zenker, plus favorable à l'étude du rein que les mélanges picriqués. Les larves dépassant 15 millimètres environ de longueur sont retirées du fixateur après 2-3 minutes de contact avec ce dernier. On ouvre largement la cavité abdominale dans le but de favoriser la pénétration du fixateur, dans lequel le têtard est ensuite replongé. Après fixation et lavages (1), les animaux sont conservés dans l'alcool à 70°.

L'animal est fixé par de fines aiguilles (type minutie) sur une plaque de

(1) Pour les pièces fragiles (jeunes embryons en particulier) nous avons mis au point et utilisé un procédé permettant de leur faire subir la totalité de la technique histologique sans aucun risque d'altération. L'objet ne quitte pas le support sur lequel il est placé dès la fixation (Cambar, 1942).

liège paraffiné qui recouvre le fond d'un petit récipient de verre. Sous la loupe binoculaire (× 30) on dissèque l'appareil excréteur. On enlève toute la paroi abdominale ventrale, ainsi que le tube digestif, le cœur et les poumons.

L'appareil excréteur est dessiné à la chambre claire (× 15 ou × 25, suivant la taille). Pour chaque animal on mesure : la longueur totale (nez-extrémité de la queue) et la longueur nez-orifice cloacal, qui nous paraît être une meilleure mesure. On note également l'état d'évolution du bourgeon de la patte postérieure, ou de la patte elle-même. Pour les animaux en cours de métamorphose, on consigne enfin l'état des pattes antérieures et l'importance de la régression de la queue.

2. — *Histologie.*

Nous employons les techniques ordinaires. Nous utilisons l'alcool butylique pour la déshydratation de toutes nos pièces. Le durcissement du vitellus, chez les embryons ou jeunes larves, occasionne quelques difficultés. On les évite en réduisant autant que possible la durée des bains dans les déshydratants et les hydrocarbures. A titre d'exemple, nous avons utilisé le procédé suivant (embryons avant l'éclosion) : alcool à 70° (milieu de conservation) ; alcool absolu : 2 minutes ; alcool butylique : 3 bains successifs chacun de 1 heure ; paraffine : 3 bains successifs, chacun de 30 minutes. La durée des bains est augmentée pour des animaux plus âgés. Coupes sériées, à 7,5 μ, plus rarement à 5 ou 10 μ. Colorations : hématoxyline au fer, éosine ou glychémalun-éosine.

3. — *Moyens d'étude et d'expression des résultats.*

a) *Étude quantitative de la croissance du mésonéphros.* — Les sujets d'expérience sont comparés avec des témoins élevés dans les mêmes conditions : soit des témoins chirurgicaux (ayant subi les mêmes incisions ou traitements que les animaux opérés, excepté l'ablation), soit des témoins normaux.

Mais, quelles que soient les mesures effectuées, la méthode par simple comparaison s'est révélée peu sûre par suite d'importantes variations d'ordre individuel, lesquelles risquent de masquer ou de fausser les résultats expérimentaux recherchés.

C'est ainsi que l'expression de la longueur du mésonéphros en fonction de l'âge des têtards ne présente aucune valeur (différences de taille importantes, quelle que soit l'homogénéité initiale du lot d'animaux opérés ou témoins). Plus satisfaisante est l'expression de la longueur du mésonéphros par rapport à la taille du têtard (plus exactement à la longueur nez-cloaque, de valeur meilleure que la longueur totale), la croissance d'un organe possédant, en général, un rapport étroit et défini avec la croissance globale de l'animal. Néanmoins, les variations individuelles ont une amplitude

encore trop importante pour accorder à ce mode d'expression une valeur certaine.

Nous avons utilisé un groupement mathématique simple des résultats numériques, permettant d'atténuer considérablement les variations singulières par le calcul de valeurs moyennes. Pour cela, nous avons d'abord étudié, chez un grand nombre de témoins, la croissance relative de chaque mésonéphros, droit et gauche (en abscisses : log. de la longueur du mésonéphros, en ordonnées : log. de la longueur nez-cloaque). On obtient ainsi, pour le mésonéphros droit et gauche, des portions de droites différentes, de pente variable suivant l'intensité de la croissance relative (1). La construction et l'interprétation de ces droites sont plus aisées et plus sûres que ne le seraient celles des courbes obtenues avec des coordonnées ordinaires. On porte alors sur chaque graphique témoin les points obtenus à l'aide de mensurations analogues pratiquées sur les animaux ayant subi la pronéphrectomie du côté correspondant. La situation de la majorité des points, par rapport aux portions de droites témoins, permet une étude rapide, simple et sûre du phénomène recherché. On peut ainsi rejeter certains résultats particuliers sans valeur, bien qu'apparemment démonstratifs.

Nous avons parfois utilisé la comparaison des surfaces des reins d'animaux opérés et témoins. Rappelons simplement le procédé utilisé : dessin à la même échelle sur papier bristol, découpage précis des régions à étudier, pesée des surfaces découpées, détermination du rapport des surfaces en fonction des poids par calcul préalable du poids d'une surface étalon.

b) *Reconstructions graphiques.* — Les résultats de certaines expériences, déviations de canal de Wolff en particulier, ont été étudiés après reconstructions graphiques. Ces dernières sont effectuées à partir de coupes transversales sériées, d'épaisseur 7,5 μ. La totalité de l'appareil néphrétique est reconstruit, après examen successif de toutes les coupes.

La technique utilisée est bien connue : à une échelle déterminée, et perpendiculairement à l'axe médian du corps, on porte sur papier millimétré la mesure de la largeur des divers constituants néphrétiques (pronéphros, glomus, uretères primaires et mésonéphros). On joint enfin les points successifs obtenus. On note en même temps, aux différents niveaux, les observations qualitatives dignes d'intérêt.

Les reconstructions représentent donc la projection de l'appareil néphrétique sur un plan frontal, à une échelle déterminée.

(1) Il nous paraît inutile de rappeler l'intérêt d'un tel mode de représentation des phénomènes de croissance. Il a été largement étudié, dans des cas très divers, principalement en vue de l'étude biométrique des Arthropodes (travaux de Teissier, en particulier).

DEUXIÈME PARTIE

LE PRONÉPHROS EXERCE-T-IL UNE INFLUENCE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU MÉSONÉPHROS ? EXPÉRIENCES DE PRONÉPHRECTOMIE

I. — But des recherches.

Chez *Rana dalmatina*, 40-45 jours après l'éclosion (longueur du corps : 19,5-20 millimètres) le mésonéphros a acquis son entière capacité fonctionnelle. Il peut alors remplacer le pronéphros (indispensable jusqu'à ce stade) après ablation bilatérale de ce dernier (Cambar, 1947 *a* et *b*). D'autre part, chez la même espèce, ainsi que chez la plupart des espèces d'Amphibiens, les premiers blastèmes mésonéphrétiques apparaissent de façon précoce, 6 à 7 jours après l'éclosion (longueur 11,2-11,5 mm.). La morphogenèse du mésonéphros s'effectue donc pendant une grande partie de la vie larvaire, en présence du pronéphros.

Le pronéphros s'atrophie graduellement, sa capacité fonctionnelle régresse, puis devient très faible ou nulle. Parallèlement, le mésonéphros effectue son développement et devient capable de fonctionner normalement. Ces faits suggèrent l'hypothèse que le pronéphros pourrait exercer une influence inhibitrice sur le développement du mésonéphros.

Le pronéphros a-t-il une influence sur la morphogenèse du mésonéphros ?

Cette question s'était déjà présentée à l'esprit de quelques chercheurs. Elle n'avait reçu que des réponses peu satisfaisantes, le plus souvent contradictoires.

Le problème est entouré de difficultés sérieuses, souvent méconnues, ce qui explique, à notre avis, la discordance des résultats. En premier lieu, il est nécessaire de mettre au point des techniques sûres de pronéphrectomie, ne provoquant aucun traumatisme important. Nous avons indiqué comment nous avons résolu cette difficulté pratique.

En second lieu, des difficultés apparaissent également, relatives à l'interprétation des résultats. Normalement, chez la jeune larve, le mésonéphros droit se développe plus vite que le gauche. Au contraire, le mésonéphros gauche est mieux développé que le droit chez la larve âgée. Il existe, de plus, des variations individuelles importantes. Pour ces raisons, la valeur des résultats obtenus par comparaison individuelle entre têtard opéré et témoin nous paraît illusoire.

En outre, toute ablation d'une partie fonctionnelle de l'appareil néphrétique entraîne des phénomènes d'hypertrophie compensatrice de la part du tissu néphrétique restant. Aussi devra-t-on établir la part qui revient (dans l'éventualité de l'accélération du développement du mésonéphros)

aux phénomènes d'hypertrophie et aux faits de stimulation morphogénétique.

Enfin, l'interprétation est obscurcie par l'apparition précoce et parfois la gravité des troubles post-opératoires. En effet, après ablation bilatérale du pronéphros, l'organogenèse est rapidement ralentie, puis inhibée, pour tous les organes. Il faut donc déterminer si le développement du mésonéphros subit l'inhibition générale et, dans l'affirmative, s'il la subit avec la même intensité que les autres organes. Enfin, la survie du têtard privé des deux pronéphros est de courte durée, ce qui limite les possibilités d'analyse des résultats opératoires.

Il n'est donc pas surprenant que les résultats obtenus sur une question aussi fluctuante soient contradictoires, et souvent entachés d'erreurs. Il suffit, en effet, de choisir convenablement certains témoins pour fournir les réponses les plus variées.

Nous nous sommes efforcé de résoudre ou d'éviter les difficultés exposées. Nos recherches furent longues et pénibles. Nous avons dû opérer un très grand nombre de têtards (plus de 2.000), à des stades variés, mesurer les mésonéphros, grouper et comparer les résultats par valeurs moyennes, sous une forme mathématique simple. Par ce moyen, nous apportons une réponse claire et définitive à la question posée.

Remarque. — Les divers et nombreux résultats obtenus à la suite des ablations de pronéphros ne sont exposés, dans ce mémoire, que d'une façon résumée, et même partielle sur de nombreux points. Nous nous bornerons à étudier le développement du mésonéphros après ablation uni- ou bilatérale du pronéphros.

II. — Historique.

Miss R. Howland (1916) effectue l'ablation du pronéphros chez *Amblystoma punctatum*. La pronéphrectomie bilatérale provoque rapidement la mort de la larve ; l'ablation unilatérale, bien supportée par l'animal, provoque l'hypertrophie compensatrice du système pronéphrétique situé du côté opposé. Dans tous les cas, les deux mésonéphros se développent normalement : « The mesonephroi on both sides develop normally... ».

En 1921, le même auteur développe son travail précédent, et apporte de nouveaux résultats relatifs aux phénomènes d'hypertrophie compensatrice. Enfin, en 1926, un important travail complète l'ensemble précédent. L'auteur y étudie la croissance du mésonéphros après pronéphrectomie ou ablation partielle d'uretère primaire. Négligeant ses conclusions antérieures, Miss Howland affirme qu'après les deux types d'opération on observe l'accélération du développement du mésonéphros situé du côté de l'ablation.

Shimasaki (1930 *a*) décrit minutieusement les effets de l'ablation uni- ou bilatérale du pronéphros sur les divers appareils ou organes de larves de *Rana nigromaculata*, sans apporter aucune conclusion d'importance. Il infirme assez timidement les conclusions de Howland concernant l'accélération de la croissance du mésonéphros après pronéphrectomie. Mais son

opposition est uniquement verbale, aucun résultat expérimental n'étant rapporté.

A notre connaissance, aucun autre auteur n'a entrepris depuis lors une étude systématique de l'influence de la pronéphrectomie. L'opinion de Miss Howland, rejetée par Miura (1930) et par les auteurs récents, en particulier O'Connor (1940 *a*), Van Geertruyden (1946) méritait donc une critique fouillée et documentée, basée sur de nombreux résultats expérimentaux.

III. — Recherches personnelles.

Les nombreuses ablations uni- ou bilatérales du pronéphros (voir : techniques opératoires) se répartissent comme il suit, selon les espèces :

Rana dalmatina	1.449 (620)
Rana esculenta	240 (108)
Alytes obstetricans	292 (185)
Bufo bufo	68 (32)

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre des ablations bilatérales. Elles ont été échelonnées depuis des stades très précoces : neurula avancée (*R. dalmatina*), bourgeon caudal (*R. dalmatina* et *R. esculenta*), éclosion spontanée (les quatre espèces considérées), jusqu'à des stades âgés (30 à 60 jours suivant les espèces).

La pronéphrectomie, pratiquée à des stades identiques, provoque, chez les larves des diverses espèces, des effets du même ordre. Nous pouvons donc les exposer en faisant abstraction des espèces utilisées. Seules les particularités éventuelles de l'une d'entre elles seront précisées.

1. — *Effets généraux de la pronéphrectomie.*

Quel que soit le stade larvaire ou embryonnaire auquel elle est effectuée, la pronéphrectomie unilatérale ne provoque aucun trouble. Le pronéphros restant est capable d'un hyperfonctionnement compensateur, rapide et intense. Si, parfois, chez les larves de Grenouille opérées à l'éclosion, on relève un œdème léger et fugace, cet accident doit être imputé à une déficience légère, fortuite et passagère, du pouvoir compensateur immédiat du pronéphros intact.

L'ablation bilatérale du pronéphros provoque immédiatement des troubles graves, rapidement mortels Le signe le plus précoce en est un fort œdème de rétention (1). Nous avons décrit, chez *Rana esculenta* (Cambar,

(1) Les premiers, Mac Clure (1918) et Swingle (1919) ont obtenu des têtards œdématiés, le premier par traitement chimique des œufs, provoquant une néphrite épithéliale diminuant la perméabilité du pronéphros; le second, par traitement chirurgical des larves.

1944 *a*) les troubles consécutifs à la pronéphrectomie bilatérale : œdème, arrêt de croissance, mort en peu de jours (une dizaine environ, 15 au maximum) après déchirure des téguments.

Aucun traitement améliorant ne permet une prolongation de la survie, en particulier : immersion dans des solutions salines équilibrées, ponction quotidienne du liquide intra-cœlomique de rétention. L'organogenèse, en général, est d'abord ralentie, bientôt arrêtée, souvent perturbée. Le développement ne progresse pas pendant la survie, ou seulement de façon infime pendant la courte période qui suit immédiatement l'opération, avant l'apparition des troubles décrits (1).

Comme nous l'avons déjà annoncé, les désordres graves apparus après l'ablation du pronéphros font apparaître de sérieuses difficultés dans l'interprétation des résultats. Les faits qui viennent d'être brièvement décrits rappellent et précisent ces difficultés.

2. — *Effets de la pronéphrectomie sur le système pronéphrétique.*

Après ablation du pronéphros l'uretère primaire adjacent subit, peu de jours plus tard, des troubles progressifs d'atrophie et de désorganisation, variables suivant les niveaux. Ces faits seront exposés au cours de la troisième partie de ce travail.

Le pronéphros et l'uretère primaire situés du côté opposé à la pronéphrectomie subissent une importante augmentation de volume. Ces faits d'hypertrophie compensatrice ont été mis en évidence et étudiés par Howland (1926) et surtout par Hiller (1931), ce dernier ayant pratiqué l'ablation du pronéphros chez des couples parabiotiques de têtards d'*Amblystoma*.

Les résultats que nous avons obtenus feront l'objet d'un travail ultérieur.

3. — *Effets de la pronéphrectomie sur le développement du mésonéphros.*

L'étude de la croissance du mésonéphros après pronéphrectomie a longuement retenu notre attention.

a) *Principales expériences pratiquées.*

Dans un premier groupe d'expériences effectuées chez *R. dalmatina*, la pronéphrectomie est pratiquée précocement : stades de neurula avancée, de bourgeon caudal ou de l'éclosion spontanée. Pour des raisons de rapidité et de facilité, la plupart des opérations sont effectuées à ce dernier

(1) Deux facteurs nous paraissent responsables de ces désordres : l'intoxication de la larve par les produits de déchets non éliminés, l'élévation de pression du liquide cœlomique (voir Holtfreter, 1945).

stade. En effet, chez *R. dalmatina*, les blastèmes mésonéphrétiques apparaissent quelques jours (4 à 6) après l'éclosion spontanée. Même pratiquée au moment de l'éclosion, l'ablation du pronéphros est donc nettement antérieure au début de la morphogenèse du mésonéphros.

Les sujets ayant subi l'ablation unilatérale et les témoins sont sacrifiés par groupes de 2 à 5, chaque 2 jours jusqu'à l'âge de 20 jours, ensuite chaque 5 jours. Ils sont ensuite disséqués. Les mésonéphros sont dessinés et mesurés afin de comparer leur longueur, et secondairement leur surface.

Les têtards ayant subi l'ablation bilatérale sont sacrifiés précocement, et jusqu'au moment de la mort (la durée de la survie est courte, 15 jours au maximum).

D'autre part, également au moment de l'éclosion, nous avons pratiqué des greffes additives de pronéphros (têtard donneur et porte-greffe sont du même âge).

Nous avons enfin traité un certain nombre de têtards privés d'un ou des deux pronéphros par une solution de colchicine. Nous recherchons ainsi l'influence éventuelle de la pronéphrectomie sur l'activité mitotique des cellules mésonéphrétiques.

Dans un second groupe d'expériences, nous opérons des têtards de *R. dalmatina* à divers stades de développement du mésonéphros, soit à l'âge de 10, 20, 30, 40 et 50 jours après l'éclosion. Les têtards sont ensuite fixés, par groupe de 2 ou 3, chaque 10 jours.

Enfin, un troisième ensemble d'expériences a pour but de vérifier les résultats antérieurs, chez d'autres espèces : *R. esculenta, Bufo, Alytes.*

b) *La croissance normale du mésonéphros (Rana dalmatina).*

Ce qui suit n'est relatif qu'aux faits ultérieurs à la formation des blastèmes mésonéphrétiques primordiaux. Le détail des stades initiaux de la morphogenèse sera exposé au cours de la troisième partie de ce travail.

Nous traduisons le développement normal de chaque mésonéphros (droit et gauche) par l'expression graphique de leur croissance relative moyenne (en abscisses : longueur nez-cloaque ; en ordonnées : longueur du mésonéphros ; coordonnées logarithmiques).

Tableau récapitulatif des moyennes.

Ne sont indiqués que les chiffres moyens calculés pour chaque mésonéphros normal (1). Les graphiques (fig. 10) sont construits au moyen de ces chiffres.

(1) Les valeurs extrêmes de la longueur nez-cloaque à mesurer sont : 4 et 13 millimètres. De 4 à 10 millimètres, nous groupons toutes les valeurs comprises dans des intervalles successifs et constants de 0,2 millimètre ; de 10 millimètres à 13 millimètres, ces intervalles sont seulement de 0,5 millimètre. Nous établissons la moyenne arithmétique de tous les chiffres groupés dans un même intervalle. D'après le même mode de groupement, nous calculons en second lieu la moyenne arithmétique des longueurs de chaque ménosephros correspondant à chacune des longueurs du corps considérées. Chaque point est construit à l'aide de ces deux moyennes.

	Longueur nez-cloaque (en mm.)	Longueur mésonéphros droit (en mm.)	Longueur mésonéphros gauche (en mm.)
(5)	4,08	0,25	0
(9)	4,33	0,29	0,18
(12)	4,56	0,39	0,27
(6)	4,70	0,46	0,29
(11)	4,91	0,49	0,37
(8)	5,13	0,58	0,54
(17)	5,33	0,73	0,60
(14)	5,58	0,86	0,72
(15)	5,67	0,95	0,79
(12)	5,88	0,96	0,82
(9)	6,06	1,11	0,94
(9)	6,28	1,24	1,12
(12)	6,50	1,42	1,40
(13)	6,73	1,43	1,48
(9)	6,89	1,47	1,62
(9)	7,08	1,56	1,74
(6)	7,29	1,59	1,72
(9)	7,55	1,70	1,81
(10)	7,69	1,65	1,84
(12)	7,96	1,72	1,90
(12)	8,16	1,78	1,94
(9)	8,32	1,98	2,06
(10)	8,53	1,89	1,99
(9)	8,77	2,00	2,05
(12)	8,90	2,02	2,23
(5)	9,09	1,94	2,16
(8)	9,21	2,00	2,20
(6)	9,53	2,02	2,32
(8)	9,88	2,12	2,45
(7)	9,94	2,42	2,55
(5	10,41	2,32	2,50
(6)	10,73	2,40	2,65
(8)	11,18	2,62	2,70
(6)	11,80	2,71	3,12
(5)	12,32	2,85	3,26
(3)	12,60	2,84	3,30
(4)	12,90	3,00	3,20

Les chiffres placés à gauche entre parenthèses indiquent le nombre de têtards mesurés (au total : 330).

On remarque trois phases différentes au cours de la croissance de chaque mésonéphros (fig. 10).

La première phase correspond à la croissance des premiers blastèmes. Ils atteignent, de chaque côté, le niveau inférieur de la gonade. La croissance des deux mésonéphros est très rapide (1). Le mésonéphros gauche, compte tenu du retard initial et persistant, croît plus rapidement que le droit (2).

(1) La longueur totale du mésonéphros comportant des blastèmes séparés, est obtenue par la somme des longueurs de chacun d'eux (mesurées dans le sens antéro-postérieur) à l'exclusion de la distance les séparant.

(2) Quelques auteurs ont déjà remarqué cette dysharmonie précoce de croissance

La croissance est plus lente au cours de la seconde phase. Les deux mésonéphros croissent le long de la gonade. Leur taille devient un moment identique, puis le gauche dépasse le droit, atteignant parfois le niveau supérieur de la gonade correspondante.

La dernière phase comprend l'accroissement de taille des unités formées.

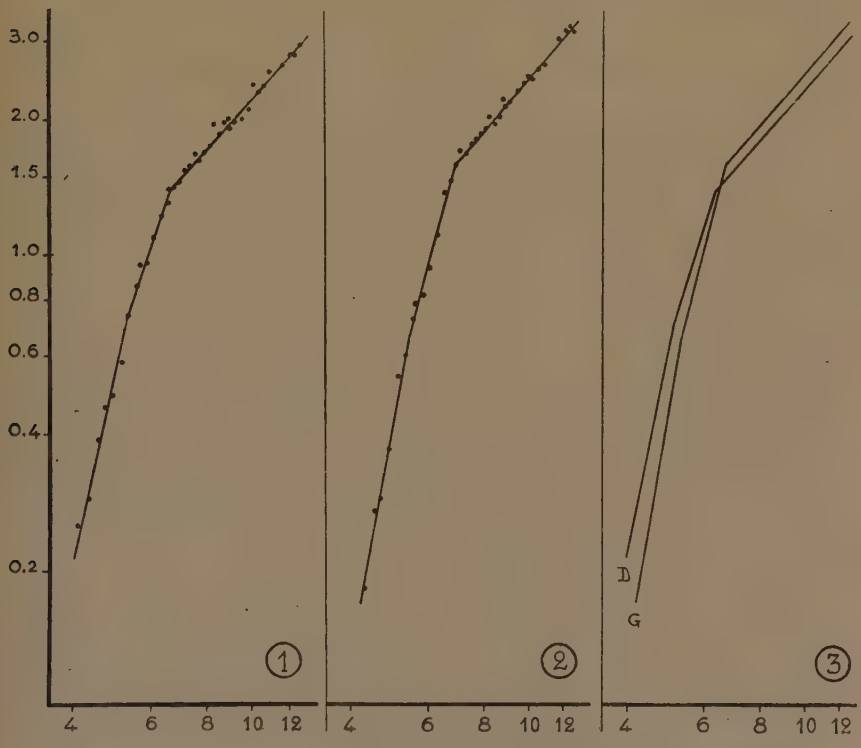


Fig. 10. — Croissance relative normale du mésonéphros (*Rana dalmatina*) (coordonnées logarithmiques).

En abscisses : longueur nez-cloaque (en mm.); en ordonnées : longueur du mésonéphros (en mm.). Les longueurs rapportées représentent des valeurs moyennes (voir texte).

1, mésonéphros droit; 2, mésonéphros gauche; 3, superposition des graphiques 1 et 2.

entre les deux mésonéphros. Ce fait paraît général et n'a encore reçu aucune explication. On l'a décrit, en effet, chez *Rana nigromaculata* et *R. vulgaris* (Miura, 1930), chez *Bufo* (Shimasaki, 1930), chez *R. temporaria* (Maschkowzeff, 1934; Van Geertruyden, 1946), ainsi que chez *R. dalmatina* et *R. esculenta* (Cambar). Gray (1930) apporte la seule observation discordante. Il décrit la dissymétrie précoce des deux mésonéphros chez *R. temporaria*, mais, d'après lui, l'accélération initiale affecte le rein gauche. Cette opinion s'explique seulement par l'emploi d'une race locale présentant cette particularité, comme l'auteur le suggère lui-même.

La croissance est ralentie ; elle est de même intensité pour les deux reins. Le mésonéphros gauche conserve une taille supérieure à celle du droit. Au cours de cette phase l'accroissement des deux reins devient à peu près isométrique de celui du corps (pente voisine de 1).

Ce mode de représentation a l'avantage de concrétiser le mode de croissance des deux reins et de servir de base sûre à l'étude de toute variation expérimentale de cette croissance.

c) *Le développement du mésonéphros après pronéphrectomies.*

L'*ablation unilatérale précoce* du pronéphros n'influence pas la morphogenèse du mésonéphros situé du côté de l'ablation. La date d'apparition, le nombre, la taille des divers blastèmes et ultérieurement des unités du mésonéphros, la croissance des unités tardives, restent dans tous les cas identiques à la normale. L'édification du mésonéphros suit les lois du développement normal (Cambar, 1947 *c*).

Ces faits se traduisent particulièrement bien par l'expression de la croissance globale relative du mésonéphros des têtards opérés. Les deux graphiques de la figure 11 donnent un exemple de la répartition des points obtenus pour deux séries de têtards de *Rana dalmatina* ayant subi l'ablation du pronéphros droit ou gauche. Les points expérimentaux sont répartis de part et d'autre des portions de droites témoins, en nombre à peu près égal, les écarts étant d'amplitude comparable. Il n'y a donc ni accélération ni retard de la croissance du mésonéphros après pronéphrectomie, ce qui se traduirait par un groupement significatif des points expérimentaux d'un côté ou de l'autre du tracé témoin.

En outre, nous avons vérifié l'absence d'influence de l'ablation unilatérale précoce du pronéphros au moyen de la mesure de la surface ventrale du mésonéphros et de l'examen de coupes sériées. Enfin, nous avons établi avec certitude que le rythme de multiplication des cellules mésonéphrétiques n'est pas modifié par la pronéphrectomie, ce qui aurait été indécelable par les seules mensurations pratiquées (étude des têtards plongés dans une solution de colchicine à 2 pour 1.000).

Ablation bilatérale précoce du pronéphros (*Rana dalmatina*). — Bien que les résultats obtenus après ablation unilatérale du pronéphros soient absolument négatifs, nous avons entrepris des séries d'ablations bilatérales. L'excision des deux pronéphros permet de lever toute objection concernant la valeur absolue des résultats précédents.

L'étude du développement du mésonéphros après pronéphrectomie bilatérale s'est révélée longue et délicate. En effet, après l'opération, la croissance du têtard est rapidement ralentie, puis arrêtée. Les processus organogénétiques sont inhibés de la même façon. En conséquence, au moment de la mort du têtard (survie moyenne de 10-12 jours) le développement des divers organes, en particulier du mésonéphros, est à peine ébauché. L'analyse en est donc difficile.

Nous avons essayé d'atténuer les troubles post-opératoires, condition

d'amélioration et de prolongation présumées de la survie. Les divers moyens utilisés ont échoué : ponction quotidienne du liquide de rétention intracœlomique, contact permanent ou de durées variables des opérés avec des solutions physiologiques de titres différents, élevage à diverses températures. Devant ces échecs, il est nécessaire de préciser, par comparaison

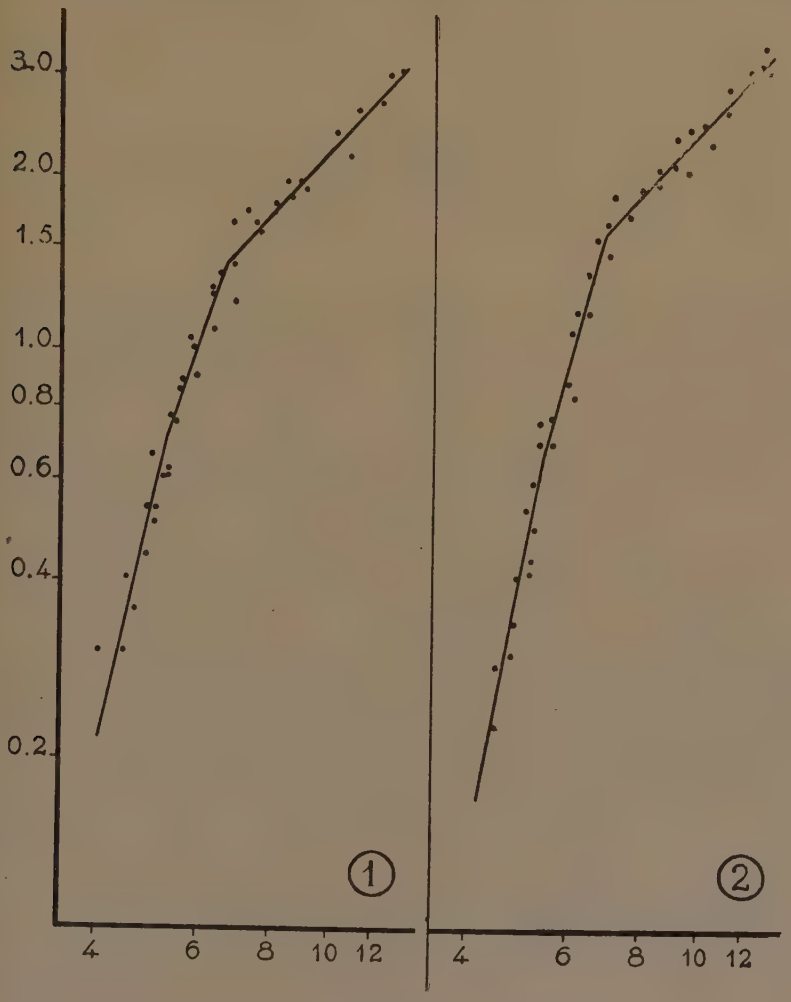


Fig. 11. — Croissance relative du mésonéphros (*Rana dalmatina*) après ablation du pronéphros (coordonnées logarithmiques).

En abscisses : longueur nez-cloaque (en mm.); en ordonnées : longueur du mésonéphros (en mm.).

1, mésonéphros droit, après ablation du pronéphros du côté droit (lot de 40 têtards); 2, mésonéphros gauche, après ablation du pronéphros du côté gauche (lot de 40 têtards).

avec les phénomènes généraux d'arrêt du développement, le degré d'inhibition de la croissance du mésonéphros. Un ralentissement plus faible de cette dernière correspondrait, en fait, à une accélération relative. La confrontation directe avec les témoins normaux devient alors sans valeur.

Pour chaque larve opérée, on compare, par rapport à des témoins, le degré du développement du mésonéphros, et celui d'autres appareils ou organes de la même larve. Nous avons utilisé, comme organe ou appareil de référence l'œil, ou le plus souvent, le tube digestif. L'examen porte sur la multiplication et la différenciation cellulaires, la première étant toujours la plus affectée (1).

Le degré d'inhibition de la morphogenèse des mésonéphros des têtards opérés est, dans tous les cas, analogue à ce que l'on observe pour les autres organes. En l'absence totale de pronéphros, le développement du mésonéphros ne subit donc aucun ralentissement, ni accélération qui l'affecte singulièrement.

Ablation tardive du pronéphros (*R. dalmatina et R. esculenta*). — Nous donnons à cette place les résultats d'ablations effectuées à partir de l'éclosion, chez *Alytes obstetricans*. Chez cette dernière espèce, en effet, l'état du mésonéphros est comparable, au moment de l'éclosion, à celui observé chez les larves de *R. dalmatina* plus âgées de 30-40 jours.

Quel que soit le stade auquel elle est pratiquée, l'ablation unilatérale du pronéphros est sans influence sur le développement du mésonéphros.

Ce n'est qu'au stade de 40 jours environ après l'éclosion (longueur du corps : 19,5-20,5 mm.) que le pronéphros cesse d'être un organe indispensable, le mésonéphros devenant pleinement fonctionnel. Jusqu'alors l'ablation bilatérale du pronéphros n'exerce aucune action particulière sur le développement du mésonéphros (se reporter aux pages précédentes en ce qui concerne les moyens d'étude utilisés). Si l'ablation bilatérale est pratiquée après ce stade, le développement des mésonéphros paraît légèrement accéléré au cours des jours qui suivent l'opération. Il s'agit, en réalité, d'une augmentation de volume, toujours faible et d'apparition inconstante (30 à 40 o/o des cas). Elle se manifeste 8-10 jours après l'opération. Nous l'interprétons comme un phénomène d'hypertrophie compensatrice. Nous avons constaté, en effet, une légère congestion des mésonéphros, ainsi, parfois, qu'un accroissement de volume des tubes (mesure des surfaces de section).

Chez *Alytes*, pratiquée 5 à 10 jours après l'éclosion, l'ablation bilatérale du pronéphros ne provoque aucun trouble général. La taille du mésonéphros subit un accroissement léger et peu durable. Ces faits, mieux marqués que ceux décrits chez la Grenouille, sont justiciables de la même interprétation.

(1) Les aspects suivants sont étudiés : longueur et disposition du tube digestif, calibre de ses diverses parties, étendue antérieure et postérieure du creusement progressif de la lumière digestive, quantité de vitellus, différenciation des diverses portions....

4. — *Le développement du mésonéphros après transplantations précoces de pronéphros.*

La transplantation du pronéphros a été pratiquée au moment de l'éclosion spontanée (*R. dalmatina* et *R. esculenta*). Les têtards donneur et récepteur sont du même âge. Le pronéphros est placé sous l'ectoderme, au niveau de la partie dorsale des plaques latérales, entre la zone pro- et mésonéphrétique.

Type et nombre d'opérations effectuées.

Transplantation d'un seul pronéphros.....	94
» de 2 pronéphros du même côté	98
» de 3 pronéphros du même côté	10
» de 4 pronéphros (2 de chaque côté).....	22

Résultats. — Le pronéphros transplanté s'atrophie et se résorbe lentement : épaississement, puis oblitération graduelle des tubes, résolution progressive en mésenchyme, persistance de durée variable d'un nodule mésenchymateux fortement pigmenté (1). En aucun cas nous n'avons observé de communication entre le greffon et l'uretère primaire du porte-greffe.

Quels que soient le nombre et la place des pronéphros transplantés, la croissance du mésonéphros est normale de chaque côté.

Les moyens d'étude utilisés ont été précédemment décrits.

5. — *Le développement du mésonéphros après diminution ou suppression de la capacité fonctionnelle du pronéphros.*

Dans le but d'étudier et d'élucider d'une façon complète et définitive le problème posé, nous avons recherché si l'altération de la fonction physiologique du pronéphros (cet organe restant intact) aurait une influence sur le développement du mésonéphros. En effet, pour Howland (1926) : « The mesonephric acceleration is to be considered... as a speeding up of the normal development rate, due to the interference with pronephric function ».

Nous avons imaginé et réalisé dans ce but des expériences variées. Ainsi, la fonction physiologique du pronéphros a été : soit réduite de façon durable par coudure de l'uretère primaire ; soit supprimée temporairement par ligature résorbable de ce même canal ou ablation d'une courte portion du conduit (régénération rapide possible) ; soit, enfin, supprimée définitivement par enlèvement d'une longueur importante de l'uretère primaire (pas de régénération).

Les techniques et les résultats de ces diverses expériences ne seront pas exposés dans ce mémoire.

(1) Pendant plusieurs jours, le pronéphros est néanmoins capable de concentrer des colorants vitaux (Fagiolo, 1936).

Résultats. — Des modifications plus ou moins importantes ou durables de l'état fonctionnel du système pronéphrétique, d'un seul côté ou des deux côtés à la fois, n'exercent aucune influence sur le développement du mésonéphros. Quelle que soit l'expérience pratiquée, le mésonéphros effectue normalement sa morphogenèse.

6. — *Conclusion.*

Il est extrêmement frappant de constater l'opposition absolue existant entre nos résultats (relatifs à plus de 2.600 animaux opérés de façon variée) et ceux de divers auteurs, Howland (1921-1926) en particulier. Les interprétations et les conclusions de cet auteur sont, à notre avis, complètement erronées. Au début de ce chapitre, nous avons exposé les difficultés sérieuses que présente le sujet. Les auteurs qui nous précédèrent paraissent les avoir méconnues ou négligées. Aussi, leurs résultats sont-ils entachés d'erreurs, malgré l'apparente valeur que leur confère la précision des mesures effectuées. Les différences entre espèces animales utilisées ne peuvent justifier la discordance des résultats. On relève, en effet, des conclusions contradictoires à la suite d'expériences pratiquées sur la même espèce.

Nous avons étudié le problème sous ses aspects principaux. Nous avons dû pratiquer de très nombreuses ablations du pronéphros, à des stades variés, et comparer un grand nombre d'opérés avec des témoins préalablement étudiés de façon minutieuse. Seule, cette méthode présente, à notre avis, une valeur indéniable. Nous démontrons ainsi que le pronéphros, fonctionnel ou non, n'exerce aucune influence, accélératrice ou inhibitrice, précoce ou tardive, sur la morphogenèse du mésonéphros. Le facteur morphogénétique responsable de l'édification du mésonéphros est donc indépendant de la présence ou de l'activité fonctionnelle du pronéphros et de la partie antérieure de l'uretère primaire. L'hypothèse énoncée au début de ce travail doit être totalement abandonnée.

TROISIÈME PARTIE

LE CANAL DE WOLFF EST L'AGENT INDUCTEUR ESSENTIEL DE LA MORPHOGENÈSE DU MÉSONÉPHROS MISE EN ÉVIDENCE ET ÉTUDE DU POUVOIR INDUCTEUR

I. — Historique.

Au début du siècle environ Hall (1904), Felix (1906) apportèrent des données descriptives précises et nombreuses sur le développement du mésonéphros. Divers chercheurs les confirmèrent et les complétèrent par la suite. En particulier, Gray, en 1930 pour les Anoures, en 1932 pour les Urodèles, résume et discute toutes les acquisitions antérieures tout en

exposant dans le détail les résultats de ses recherches, remarquables par la précision des observations. Ce mémoire termine la série des études importantes attachées à l'aspect descriptif du développement du mésonéphros des Amphibiens.

Les premières recherches d'embryologie expérimentale apparurent à peu près en même temps que le travail de Gray. Si, dans certains domaines, elles se montrèrent aussitôt particulièrement fécondes, dans le cas présent elles n'apportèrent pendant plusieurs années que des données imprécises dont certaines ont dû être rejetées aujourd'hui.

Les premiers auteurs qui font allusion à une influence morphogénétique éventuelle du canal de Wolff sur le mésonéphros n'ont pas apporté, à l'appui de leurs affirmations, les résultats d'expériences précises.

C'est ainsi que Humphrey (1928), étudiant chez *Amblystoma* la destinée des gonocytes primordiaux et la formation des gonades, est conduit à extirper et greffer des portions de mésoderme latéral. Après étude histologique, il affirme que le développement et la différenciation du mésonéphros ne dépendent en aucune façon du canal de Wolff. Les résultats de diverses greffes lui donnent la certitude que le matériel mésonéphrétique possède un pouvoir d'auto-différenciation.

Machemer (1929), chez *Triton alpestris*, effectue diverses transplantations de blastèmes mésonéphrétiques. L'ensemble de ses expériences le conduit à accorder à l'ébauche mésonéphrétique un pouvoir d'auto-différenciation, bien qu'il ait parfois observé un meilleur développement du mésonéphros en présence du canal de Wolff.

Shimasaki (1930 *b*) effectue chez *Bufo vulgaris japonicus* diverses transplantations de canal de Wolff et de matériel mésodermique voisin. Ce travail est le premier qui ait été spécialement destiné à élucider le rôle de ce conduit. L'auteur conclut à une possibilité d'auto-différenciation du mésonéphros. Néanmoins, il constate que la présence du canal de Wolff favorise la rapidité du développement et de la différenciation.

A la même époque (1930), Miura, chez *Rana nigromaculata* et *Bufo vulgaris*, apporte les premiers résultats importants. Malheureusement la technique opératoire qu'il utilise nous paraît peu sûre, et la valeur de ses expériences s'en trouve très amoindrie. Il extirpe diverses portions du canal de Wolff, laissant en place, « autant que possible » (?) les blastèmes mésonéphrétiques. Ses conclusions manquent de précision. Néanmoins, il est le premier auteur à conclure que le mésonéphros ne peut se former sans la présence du canal de Wolff : « Also kann bei einer Larve, bei welcher der Vornierengang total exstirpiert wurde, auf der operierten Seite niemals eine Urniere entstehen ». Par cette seule affirmation, ce travail aurait mérité d'être largement connu. En fait, il passa presque inaperçu. Nous n'avons pu en prendre connaissance que tardivement.

Plusieurs années s'écoulent sans apporter de nouveaux résultats. Ce n'est qu'en 1937 que Waddington publie quelques résultats expérimentaux. Dès lors les travaux se sont succédé rapidement, en particulier à partir de 1939-1940. Malheureusement toute recherche bibliographique fut impraticable pendant la durée de la guerre. Aussi les travaux récents nous

étaient-ils totalement inconnus lorsque commencèrent nos recherches au début de 1943.

Ce n'est que lorsque notre travail expérimental fut presque terminé que nous avons pu prendre connaissance des résultats des recherches entreprises par nos contemporains. Nous avons alors constaté avec surprise qu'elles étaient nombreuses et avec plaisir que leurs conclusions étaient en harmonie avec les nôtres.

Waddington (1937), chez *Rana fusca*, expose des idées voisines de celles de Miura sans repousser totalement une faible possibilité d'auto-différenciation du matériel mésonéphrétique.

Burns (1938), chez *Amblystoma*, extirpe le canal de Wolff avant qu'il atteigne la région du mésonéphros. Dans ces conditions, certaines unités mésonéphrétiques paraissent capables d'auto-différenciation, alors que d'autres restent à l'état de blastèmes. L'auteur ne donne aucune autre précision. Il est très regrettable que ce travail soit exposé si succinctement.

O'Connor (1940), chez *Amblystoma*, apporte des résultats probants, opposés en partie aux précédents. La croissance de l'uretère primaire en direction caudale est arrêtée expérimentalement par implantation de tissus étrangers. En conséquence, en l'absence de conduit, les cellules mésonéphrétiques ne s'organisent pas en structures tubulaires. Par contre, si le conduit est extirpé tardivement, après sa croissance normale jusqu'au cloaque, on observe une différenciation assez avancée du matériel mésonéphrogène.

Holtfreter (1944), dans un important travail sur le pronéphros, confirme, incidemment, la première partie des résultats de O'Connor.

Enfin, Van Geertruyden (1946), expose les résultats de nombreuses recherches effectuées chez *Rana fusca*. Avec habileté et précision, cet auteur pratique diverses interventions très précoces (ablations ou greffes de types variés) destinées à étudier le rôle du canal de Wolff sur la morphogenèse du mésonéphros. Ses conclusions concordent avec les nôtres. Nous avons pu, grâce à des opérations différentes, effectuées à des stades plus tardifs, apporter des renseignements supplémentaires, en particulier en ce qui concerne l'organogenèse du mésonéphros sous l'influence inductrice du canal de Wolff.

II. — Recherches personnelles.

1. — *Observations préliminaires.*

Deux groupes d'observations différentes nous conduisirent à considérer avec faveur l'hypothèse du pouvoir inducteur du canal de Wolff sur le mésonéphros : les modifications subies par ce canal après pronéphrectomie, les aspects histologiques de la morphogenèse normale du mésonéphros.

Examinons-les successivement.

a) *Destinée de l'uretère primaire après ablation précoce du pronéphros.* — Après ablation unilatérale précoce du pronéphros (au plus tard au

moment de l'éclosion) l'uretère primaire subit, quelques jours après l'opération, des troubles d'atrophie et de désorganisation, variables suivant les niveaux (Cambar, 1947 *d* chez *Rana dalmatina*).

Un à deux jours après l'ablation, la partie de l'uretère primaire la plus voisine de la région pronéphrétique, subit déjà un début d'atrophie. Dès le 3e jour ce fait est très marqué. Il se manifeste par l'absence de lumière et par une position désordonnée de la plupart des cellules du conduit. Cette désorganisation s'atténue progressivement vers l'arrière, pour disparaître vers le milieu du conduit.

Ces troubles s'accentuent chez des têtards plus âgés. Ainsi, 15 jours après l'ablation du pronéphros, la partie antérieure de l'uretère primaire a complètement disparu. Le seul vestige de sa présence consiste, parfois, en 4 ou 5 cellules accolées, disposées sans ordre. En direction caudale, les désordres s'atténuent de proche en proche : disposition cellulaire devenant moins atypique, transformation graduelle en un cordon cellulaire compact avec organisation tubulaire, réapparition progressive de la lumière, enfin aspect final à peu près normal, un rétrécissement de la lumière excepté.

Fait remarquable : en face des zones mésonéphrogènes les altérations sont au plus marquées par un rétrécissement notable de la lumière. Jamais on n'observe de phénomènes de désordre ou de dispersion cellulaires.

La morphogenèse du mésonéphros s'effectue donc en présence d'un uretère primaire n'ayant subi que de minimes altérations. La persistance de l'état à peu près normal du canal de Wolff, uniquement au niveau des blastèmes mésonéphrétiques, suggère que le canal possède une influence sur la morphogenèse du mésonéphros.

b) *Aspects histologiques de la morphogenèse initiale du mésonéphros.* — Les premières cellules mésonéphrogènes présomptives apparaissent au-dessus de la veine cardinale, entre le canal de Wolff et la racine du mésentère dorsal (*Rana dalmatina*). Une preuve expérimentale en a été fournie par Van Geertruyden (1946), qui décrit, chez *Rana fusca*, des phénomènes à peu près identiques (1) à ceux que nous allons exposer.

La plupart de ces cellules initiales sont éloignées du canal de Wolff et situées au voisinage du mésentère dorsal. Elles présentent l'aspect de cellules mésoblastiques indifférenciées. Elles sont de forme aplatie et possèdent encore des plaquettes vitellines. A la place indiquée, elles ne se multiplient que rarement (absence de figures mitotiques après traitement à la colchicine). Elles ne sont pas disposées d'une façon absolument homogène le long des somites mésonéphrogènes, mais elles se condensent par place. Cette disposition métamérique du matériel mésonéphrétique se retrouve dans les condensations blastématiques ultérieures, bien que les deux dispositions ne nous paraissent pas toujours coïncider.

Le lieu d'origine de ces cellules mésonéphrogènes n'est pas connu, non

(1) Cet auteur greffe au niveau du mésentère dorsal des fragments de tissus étrangers lesquels envahissent, puis détruisent les cellules mésonéphrogènes. Ultérieurement, en effet, le mésonéphros n'apparaît pas.

plus que les facteurs qui dirigent leur migration et leur groupement en position typique.

Environ au moment de l'éclosion spontanée (température : 15°), stade 22-23 de l'échelle de Shumway (1942), les cellules émigrent vers le canal de Wolff pour venir se condenser *au contact* du conduit, en position interne, légèrement dorsale. Pendant plusieurs jours, des travées cellulaires persistent encore entre la racine du mésentère dorsal et la condensation cellulaire déjà accolée au canal de Wolff (fig. 12).

Fig. 12. — Morphogenèse normale du mésonéphros. Coupe transversale 10 jours après l'éclosion.

(Noter le développement plus avancé du blastème mésonéphrétique droit que gauche. Les cellules mésonéphrogènes ont quitté la racine dorsale du mésentère pour se condenser au contact de l'uretère primaire). × 100.

bl_1, blastème mésonéphrétique gauche; bl_2, blastème mésonéphrétique droit; *md*, racine dorsale du mésentère; up_1 et up_2, uretère primaire gauche et droit; *vc*, veines cardinales.

C'est ainsi que se forment les blastèmes mésonéphrétiques, dont nous décrivons, dans la deuxième partie de ce travail, la disposition et le développement à partir du 5e ou 6e jour après l'éclosion.

Les cellules qui constituent ces blastèmes primordiaux sont d'abord disposées sans ordre. Elles présentent peu de mitoses. Elles s'organisent progressivement en structures tubulaires compactes, à lumière encore virtuelle, en même temps qu'elles se différencient. Elles perdent progressivement leurs caractères mésoblastiques initiaux et acquièrent la forme et les attributs d'éléments épithéliaux tubulaires : allongement de la cellule, noyau en position basale, etc...

Les parties tubulaires d'abord édifiées prennent leur aspect normal (creusement de la lumière, en particulier) tandis que la croissance des tubes se poursuit par allongement et formation de nombreuses circonvolutions. En même temps, les mitoses deviennent nombreuses.

Nous avons déjà observé (voir 2e partie) que les blastèmes situés du côté droit sont toujours plus développés que ceux du côté gauche. Cette accélération est précoce. En effet, il semble que, du côté droit, existe déjà une légère avance dans la migration des cellules mésonéphrogènes vers le canal de Wolff et que, de plus, le nombre de ces cellules soit plus élevé. La différenciation ultérieure des blastèmes droits débute également d'une manière plus précoce. Ce fait important n'a pas encore reçu d'essai d'explication.

Il est très remarquable que différenciation, multiplication et organisation des cellules mésonéphrogènes n'apparaissent que lorsque les blastèmes sont

au contact du canal de Wolff. On constate que dans chaque blastème la partie dont l'organisation est la plus avancée est *toujours* celle qui est la plus voisine du conduit.

L'ensemble de ces observations suggère avec force une influence attractive, puis morphogénétique du canal de Wolff sur les cellules et les blastèmes mésonéphrogènes.

Il nous reste à vérifier ces hypothèses par des expériences.

2. — *Démonstration expérimentale du pouvoir inducteur du canal de Wolff sur le mésonéphros.*

Toutes les expériences qui vont être décrites ont été effectuées sur des embryons dégangués de Grenouille agile (*Rana dalmatina* Bon.).

Nous avons préalablement recherché si, avant l'apparition des blastèmes mésonéphrétiques, il n'existe pas un stade pendant lequel le canal pourrait être saisi à la pince et déplacé en totalité. Il existe précisément une période pendant laquelle l'uretère primaire peut être totalement extirpé en le tirant simplement par une extrémité. Mais ce stade est de courte durée, et se limite aux 12 heures qui précèdent l'éclosion spontanée (embryon de 9 millimètres). En dehors de ce moment, le conduit ne peut plus être, par ce moyen, détaché en totalité des tissus environnants.

Il serait alors nécessaire d'extirper le conduit après une longue incision ectodermique dans la région du mésoderme latéral. Cette méthode, utilisée par les chercheurs qui nous ont précédé, risque d'altérer les relations topographiques entre le canal et les blastèmes mésonéphrétiques dans le cas d'extirpation partielle ou de greffes, ou même de léser les blastèmes. Nous avons évité ces causes d'erreur.

Toutes les techniques exposées sont originales. Elles sont, malgré leur simplicité et leur apparente facilité, d'une exécution délicate (3 à 4 o/o de réussite en moyenne).

L'exposé préalable de ces données évitera leur répétition à l'occasion de chaque type d'opération.

a) *Ablation totale de l'uretère primaire.* — Nous avons réalisé l'ablation précoce, totale et unilatérale de l'uretère primaire (Cambar, 1947 *c*) (voir figure 13).

Technique utilisée. — Après soulèvement d'un lambeau d'ectoderme (*a*), on sectionne l'uretère primaire (*up*) immédiatement en arrière du pronéphros. De la même façon, on soulève un petit volet ectodermique (*b*) au-dessus du point de jonction de l'uretère primaire avec le rectum. On sectionne l'uretère primaire exactement à ce niveau. Le bout antérieur du conduit est alors tiré vers l'avant (*c*), sans saccades, et dans la direction même du canal. On extirpe ainsi tout l'uretère primaire.

L'ablation est certainement totale puisqu'on peut voir glisser puis disparaître sous l'ectoderme (en *b*) le bout distal du conduit, alors que ce dernier est tiré vers l'avant. On enlève enfin le pronéphros (*pr*) attenant.

Cette technique est d'une réalisation délicate (une ou deux réussites, en moyenne, pour dix essais). Elle présente l'avantage de ne causer aucun traumatisme des divers

constituants de la zone mésonéphrogène, ainsi que le confirment des examens histologiques immédiats.

104 embryons ont été opérés avec succès.

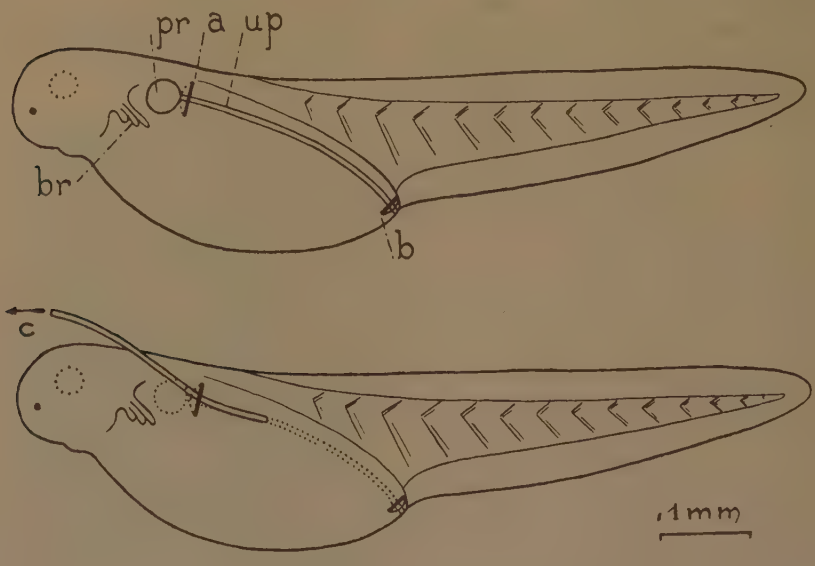


Fig. 13. — Technique d'ablation totale de l'uretère primaire, avant l'éclosion (*Rana dalmatina*).

a, *b*, incisions ectodermiques; *c*, extirpation de l'uretère primaire; *br*, branchies externes; *pr*, pronéphros; *up*, uretère primaire.

Résultats. — Sans aucune exception, le mésonéphros n'apparaît pas du côté où l'uretère primaire a été enlevé.

A la place du mésonéphros, on observe une bande cellulaire étroite, s'étendant d'abord sur tous les somites normalement mésonéphrogènes, puis devenant plus courte après la métamorphose.

Les figures 14 et 15 montrent, dessinés à la chambre claire, quelques aspects du mésonéphros après ablation de l'uretère primaire, soit à gauche, soit à droite.

Le mésonéphros situé du côté opposé à l'ablation effectue un développement complet. Sa croissance relative en longueur est normale (comparaison avec des témoins selon la méthode décrite dans la 2e partie). Par contre son volume est nettement augmenté. En effet, on observe une augmentation de sa surface, mesurée par pesée de la projection sur bristol des surfaces ventrales. Au cours des premiers jours cet accroissement de surface est considérable, et dépasse parfois 80 o/o. Plus tard, il devient de 40 o/o environ, jamais inférieur à 20 o/o.

Ce mésonéphros unique subit donc une hypertrophie compensatrice marquée. Sur coupes, on relève une augmentation de taille des diverses

portions tubulaires. Mais on note surtout une très forte congestion de l'organe, tous les vaisseaux étant gorgés d'hématies.

Comment évoluent les cellules mésonéphrogènes situées du côté opéré ? Elles suivent d'abord les lois du développement normal : apparition en position typique, migration au-dessus de la veine cardinale vers l'emplacement de l'uretère primaire, à ce dernier endroit condensation en blastèmes. Ces condensations sont relativement fugaces, et bientôt les cellules forment une bande blastématique à peu près continue, étroite et allongée, symétrique du mésonéphros normal.

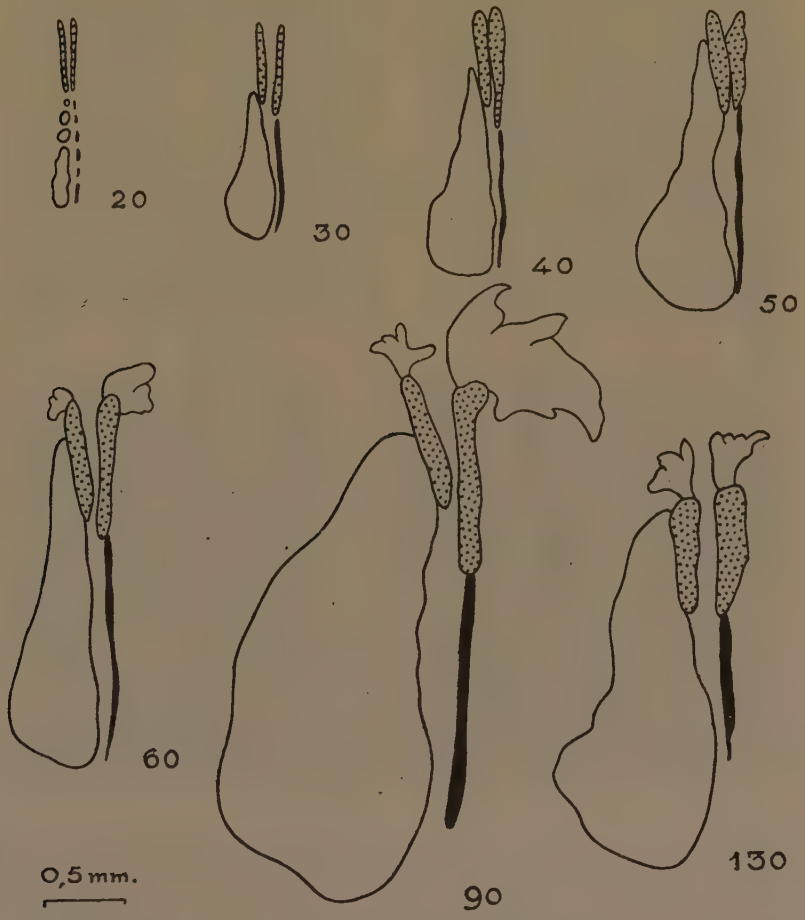


Fig. 14. — Résultats de l'ablation totale de l'uretère primaire (côté gauche).

Dessins à la chambre claire. Vue ventrale. En noir : blastèmes mésonéphrétiques indifférenciés, du côté opéré; en pointillé : glandes génitales. Les chiffres indiquent la durée de la vie du têtard après l'opération : 90 jours, début de métamorphose; 130 jours, métamorphose terminée (queue résorbée depuis 10 jours).

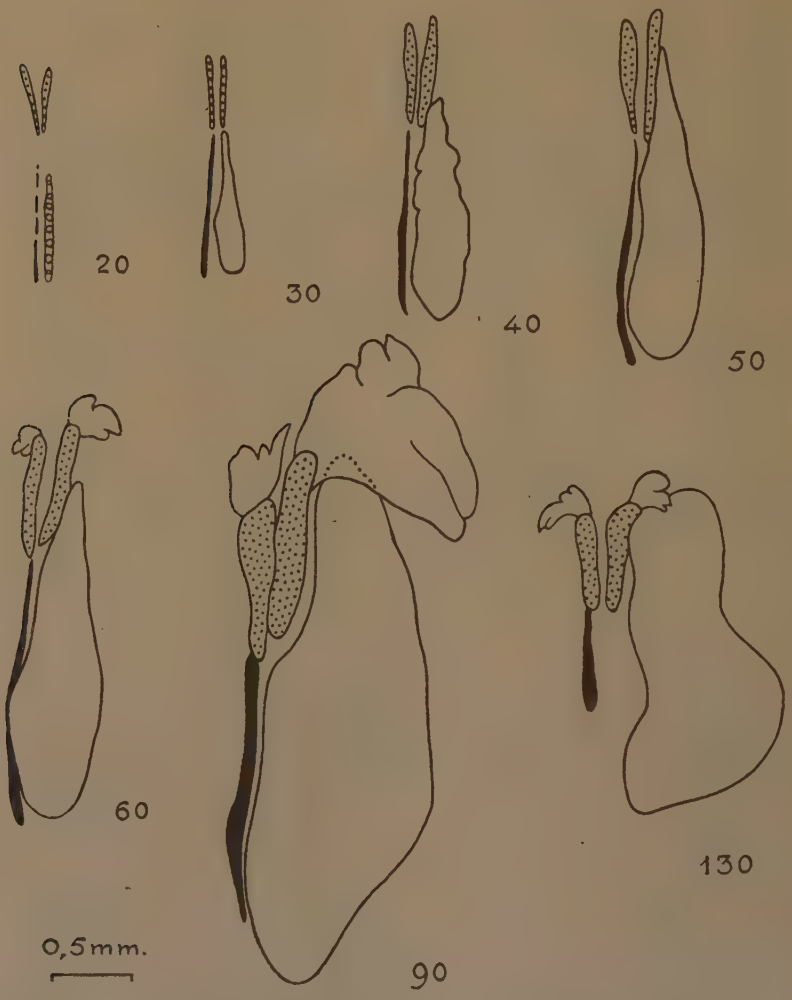


Fig. 15. — Résultats de l'ablation totale de l'uretère primaire (côté droit).
Dessins à la chambre claire. Vue ventrale. En noir, blastèmes mésonéphrétiques indifférenciés, du côté opéré. Même légende que pour la figure 14.

La mise en place des cellules mésonéphrétiques présomptives est donc indépendante de l'uretère primaire, et relève des mouvements morphogénétiques généraux initiaux. Elle n'a pas de rapport apparent avec les diverses inductions régionales propres aux constituants de l'appareil excréteur.

Au contraire, en l'absence d'uretère primaire ces cellules restent toujours, sans aucune exception, sous forme de blastèmes indifférenciés, dans lesquels n'apparaît jamais la moindre trace d'une organisation tubulaire.

Pendant plusieurs jours (30-40) ce blastème diminue de volume chez la

plupart des sujets. Nous pensons que quelques cellules initiales se dispersent dans le mésenchyme environnant. En tout cas on n'observe jamais de multiplication cellulaire. A partir de 30-40 jours le nombre des cellules du blastème augmente faiblement, principalement dans la partie postérieure. On peut relever, en effet, la présence de quelques figures de mitose.

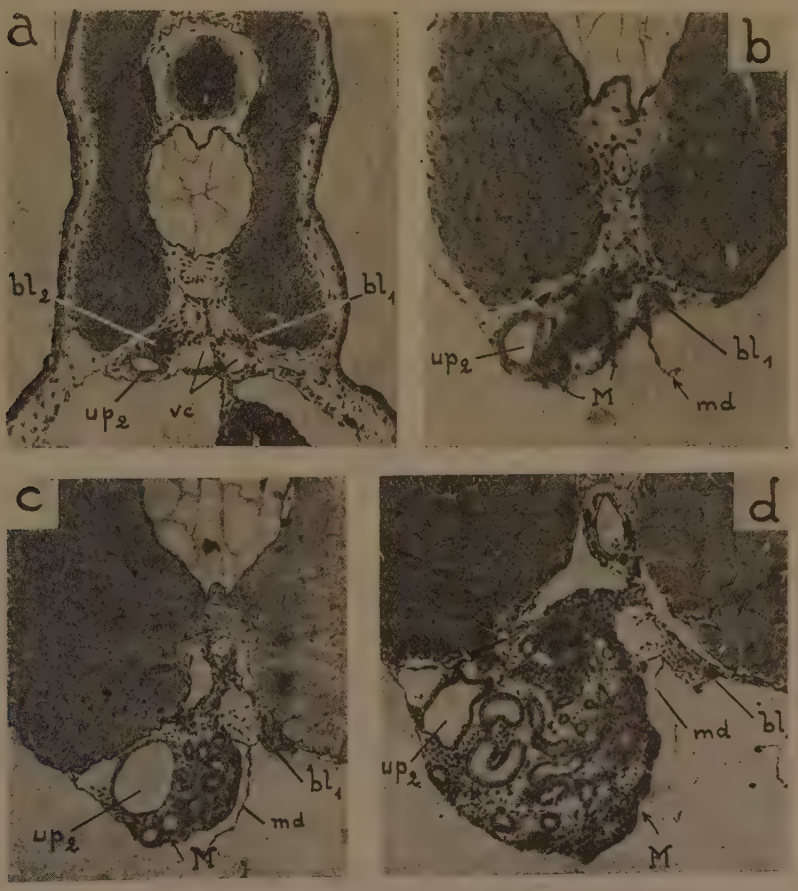


Fig. 16. — Coupes transversales au niveau du mésonéphros, après ablation précoce de l'uretère primaire gauche.

(Noter la petite taille persistante du blastème mésonéphrétique indifférencié, du côté opéré).

Coupes pratiquées : *a*, 10 jours après l'opération; *b*, 20 jours; *c*, 30 jours; *d*, 50 jours. bl_1, blastème mésonéphrétique indifférencié du côté opéré; bl_2, blastème mésonéphrétique en voie de différenciation, côté non opéré; *md*, mésentère dorsal; M, mésonéphros normal; up_2, uretère primaire, côté non opéré; *vc*, veines cardinales.

Photographies *a*, *c* et *d* : × 100; — photographie *b* : × 150.

Quel que soit l'âge des opérés (certains ont été conservés jusqu'à l'approche de la métamorphose) ou la taille du blastème, nous n'avons jamais observé la moindre trace de tubes mésonéphrétiques (fig. 16 et planche I).

Parfois, chez les têtards les plus âgés, on observe dans la partie postérieure du blastème, une condensation cellulaire située dans l'angle supéro-externe du blastème. Elle ne présente jamais une disposition tubulaire, même compacte. Elle suggère plutôt un rapprochement avec la formation, d'origine cloacale, décrite par O'Connor (1940) sous le nom de « duct like structure », et qui apparaît lorsque la croissance de l'uretère primaire vers le cloaque a été inhibée par obstruction mécanique du bourgeonnement du blastème antérieur générateur. La condensation cellulaire que nous avons signalée, limitée à la région postérieure et située, dans le blastème, à la place du canal de Wolff absent, partage ces caractères avec la « duct like structure », mais d'autres arguments seraient nécessaires pour qu'on puisse les homologuer avec certitude.

En résumé, la différenciation, la multiplication (sauf minime et seulement tardive) et l'organisation tubulaire des blastèmes mésonéphrogènes ne peuvent s'effectuer en l'absence d'uretère primaire (portion wolffienne).

b) *Déplacement, puis isolement d'une portion postérieure de l'uretère primaire dans la région mésonéphrogène.*

Technique utilisée. — Comme dans l'opération précédente, on incise l'ectoderme en (*a*), immédiatement en arrière du pronéphros, et en (*b*) au-dessus du point de jonction du canal de Wolff avec le rectum (voir fig. 17). Le canal est sectionné

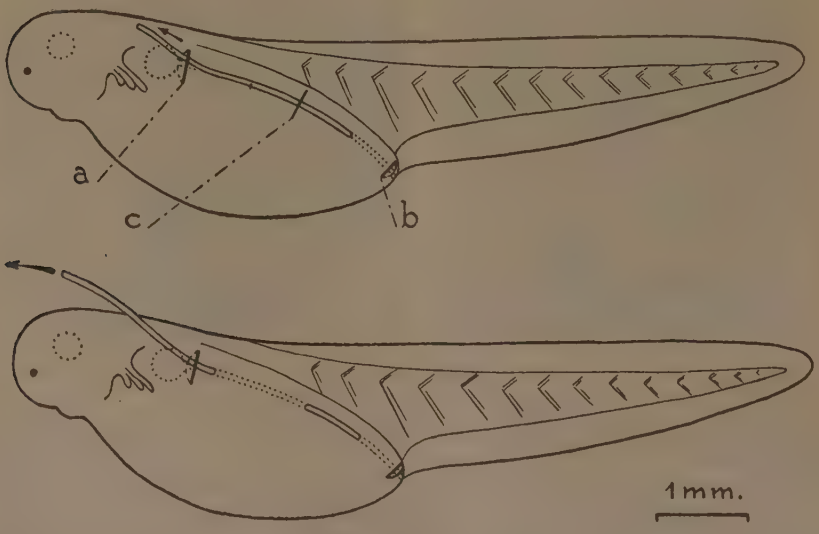


Fig. 17. — Technique d'ablation partielle de l'uretère primaire, avant l'éclosion. *a*, *b*, *c*, incisions ectodermiques. En *c*, section de l'uretère primaire permettant d'isoler la partie terminale (zone wolffienne).

à ces deux endroits. Par l'incision (*a*), on tire le conduit par son bout antérieur, avec précaution, sans saccades, de façon à le faire glisser en totalité vers l'avant, d'environ 0,5 millimètre. Par une petite incision (*c*) à travers l'ectoderme, on sectionne le canal. Cette section est à environ 0,5-0,7 millimètre de l'extrémité postérieure. La partie terminale du conduit restant désormais isolée à sa nouvelle place, on extirpe totalement le reste du canal. On enlève enfin le pronéphros.

La partie postérieure du canal de Wolff se trouve ainsi isolée, légèrement déplacée en direction antérieure, mais dans une position typique, conservant les rapports topographiques normaux du canal avec les blastèmes mésonéphrogènes (Cambar, 1947, *g*).

Nombre d'animaux opérés avec succès : 14.

Cette expérience constitue une contre-épreuve de la précédente, les unités mésonéphrétiques devant se former, d'une manière privilégiée en regard de la portion isolée du canal de Wolff. Elle doit fournir en même temps des renseignements sur les modalités de l'induction.

Résultats. — Dans toute la région où le canal de Wolff est absent le mésonéphros reste à l'état de blastèmes de petite taille et indifférenciés. Les éléments mésonéphrogènes présomptifs ne présentent aucune ébauche d'organisation tubulaire. Ils évoluent comme nous l'avons déjà décrit.

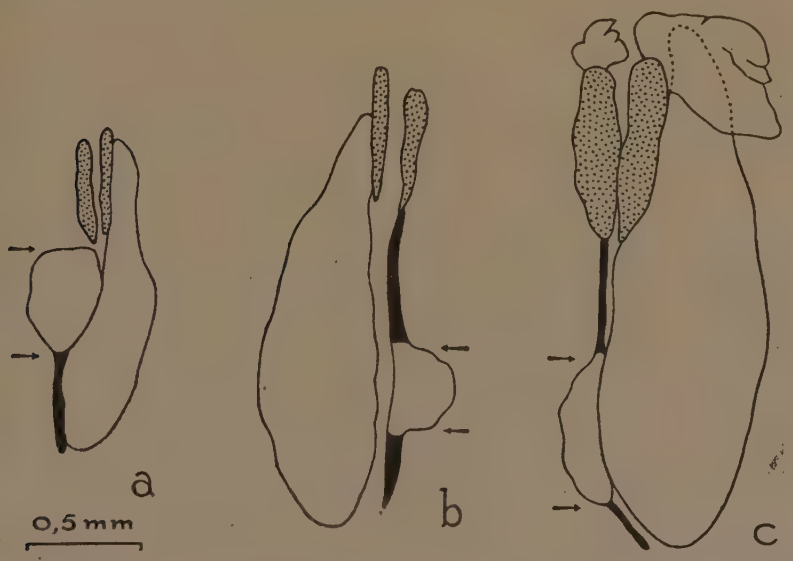


Fig. 18. — Résultats de l'ablation partielle de l'uretère primaire.

a, *c*, du côté droit; *b*, du côté gauche. Dessins à la chambre claire. Vue ventrale. Les flèches indiquent la situation de la portion isolée du canal. En noir, blastèmes mésonéphrétiques indifférenciés. En pointillé, glandes génitales.

a, *b*, *c*, aspect des mésonéphros, respectivement : 40, 60 et 90 jours après l'opération.

Dans la zone qui contient la portion de canal de Wolff, les blastèmes mésonéphrogènes subissent l'induction morphogénétique du canal. Des tubes mésonéphrétiques d'aspect normal s'édifient (voir figure 18). Ils ne

peuvent pas atteindre les stades ultimes du développement normal, soit parce qu'ils ne débouchent pas dans le cloaque soit parce qu'ils confluent (plus rarement) dans un fragment de canal de Wolff, aveugle aux deux extrémités (planche I).

L'incapacité de régénération du canal vers le cloaque, dans les conditions expérimentales indiquées, condamne de toute façon ces unités à une dégénérescence hydronéphrotique lente et progressive.

Ces résultats confirment les conclusions antérieures. L'action inductrice ne se manifeste que sur les blastèmes mésonéphrogènes exactement situés en regard du fragment de canal isolé. Elle est nulle sur tous les autres blastèmes quelle que soit leur position. Une portion de canal, même importante, ne suffit donc pas à induire la morphogenèse de tous les blastèmes mésonéphrogènes situés du même côté. Pour que tous les blastèmes mésonéphrétiques présomptifs subissent une croissance et une différenciation normales, il est nécessaire qu'une portion de canal de Wolff soit présente dans tous les somites correspondants.

L'induction est strictement localisée à un côté. En effet, les opérés ayant subi d'un côté l'ablation totale de l'uretère primaire ont conservé intact l'uretère primaire du côté opposé. Ce dernier, bien qu'il ne soit pas très éloigné du blastème appartenant au côté opéré, n'a cependant exercé sur lui aucune action inductrice.

Bien plus, dans les expériences d'ablations partielles de l'uretère primaire, on observe une brusque absence de croissance et d'organisation des blastèmes dès qu'on s'éloigne du canal : l'action inductrice ne peut donc s'exercer qu'à une très courte distance. De nouvelles expériences, exposées plus loin, nous ont permis de mesurer cette distance.

En outre, les ablations partielles nous ont montré que l'uretère primaire (du moins la partie postérieure, wolffienne) conserve son pouvoir inducteur, même s'il n'est pas fonctionnel et s'atrophie. Cette remarque nous a conduit à nous demander si la portion antérieure de l'uretère primaire, au niveau de laquelle n'apparaît aucune formation néphrétique, ne posséderait pas néanmoins une action inductrice potentielle. Les expériences suivantes apportent une réponse positive à cette question.

3. — *Analyse du pouvoir inducteur des diverses parties de l'uretère primaire.*

Il existe, chez les Amphibiens, deux régions néphrétiques nettement séparées : pronéphros (localisé aux somites antérieurs, sauf les deux premiers), et mésonéphros (étendu sur les somites postérieurs). Ces deux organes sont séparés par un espace dépourvu de formations néphrétiques. Nous proposons de l'appeler : région dianéphrétique antérieure (1).

A des stades précoces, il existe pourtant dans cette région, localisées à la racine dorsale du mésentère, des cellules mésoblastiques analogues, quoique moins nombreuses, aux cellules mésonéphrogènes présomptives

(1) Le terme de région dianéphrétique a été utilisé par Gruenwald (1942) pour désigner, chez le Poulet, la région comprise entre le méso- et le métanéphros.

de la région du futur mésonéphros. La région dianéphrétique est donc originellement pourvue des deux éléments (uretère primaire et amas de cellules mésoblastiques) qui constitueront postérieurement un mésonéphros. Il n'est donc pas superflu de se demander pourquoi il ne se forme cependant aucun rein dans cette région. Cette absence de développement d'organes néphrétiques peut être due, ou bien à une absence de pouvoir inducteur de l'uretère primaire antérieur, ou bien à un manque de réactivité, de « compétence », des cellules mésoblastiques ou bien à ces deux déficiences à la fois.

L'analyse précédemment effectuée nous a montré que dans la région postérieure (mésonéphrétique) le canal de Wolff est inducteur, et les blastèmes néphrétiques sont « compétents », c'est-à-dire réactifs à l'action inductrice. On pourra donc éprouver l'existence d'un pouvoir inducteur de l'uretère primaire antérieur en le substituant au canal de Wolff au niveau des blastèmes mésonéphrétiques, c'est-à-dire simplement en le déplaçant convenablement vers l'arrière. Inversement, en déplaçant vers l'avant le canal de Wolff, on l'amènera dans la région dianéphrétique en regard des cellules mésoblastiques à éprouver et on verra si ces dernières sont sensibles à l'action inductrice.

a) *Déplacement, dans la région dianéphrétique, de la partie postérieure (inductrice) de l'uretère primaire.*

Technique utilisée (fig. 19). — L'opération débute comme dans le cas précédent : incisions ectodermiques en (*a*) et (*b*), section du canal en ces deux points, glisse-

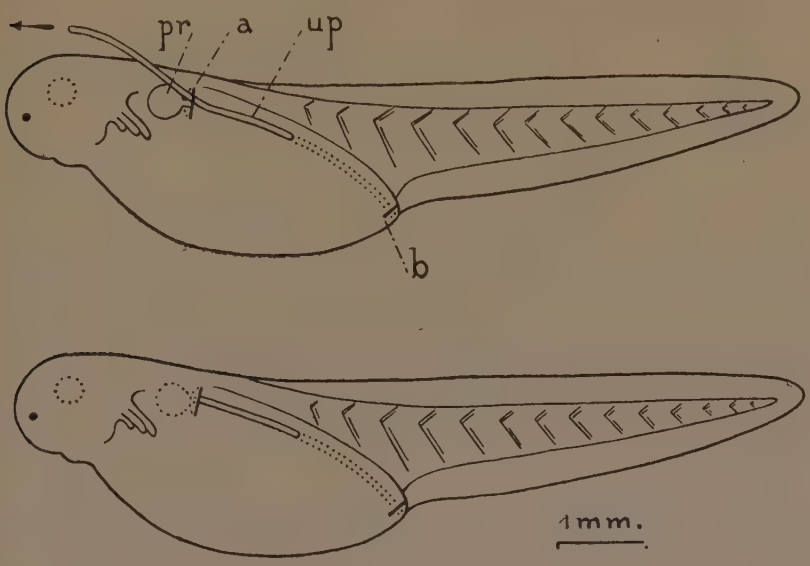


Fig. 19. — Déplacement, par glissement en direction antérieure, de la partie postérieure de l'uretère primaire.

a, *b*, incisions ectodermiques; *pr*, pronéphros; *up*, uretère primaire.

ment du canal en direction antérieure. La moitié environ du canal est tirée hors du têtard. On sectionne alors le canal en (*a*), la partie terminale restant à sa nouvelle place. On enlève enfin le pronéphros (*pr*).

Nombre d'animaux opérés avec succès : 16.

Une opération de même type a été réalisée par une technique très voisine : 6 opérations réussies.

On sectionne le canal en (*b*), mais non pas en (*a*).

Par l'incision (*a*), on tire avec précaution, comme précédemment, la moitié environ de la longueur de l'uretère primaire, puis on pelotonne sous l'ectoderme, en arrière du pronéphros, cette portion de canal extirpée hors du têtard. De cette façon, le pronéphros et la totalité de l'uretère primaire conservent leur aptitude fonctionnelle, mais cette dernière ne peut se manifester par suite de la suppression expérimentale du débouché cloacal du canal.

Résultats. — La partie terminale de l'uretère primaire, normalement inductrice du mésonéphros, expérimentalement déplacée dans la région dianéphrétique, n'y provoque la formation d'*aucune* structure néphrétique. Les cellules mésoblastiques des somites non mésonéphrogènes ne répondent donc pas au stimulus inducteur ; elles n'ont pas la compétence nécessaire. On note néanmoins parfois une certaine accumulation de cellules indifférenciées au voisinage du conduit, mais aucune ébauche de différenciation ou d'organisation.

Quant aux cellules normalement mésonéphrogènes les plus voisines (situées dans les somites mésonéphrétiques les plus antérieurs) en l'absence d'uretère primaire elles évoluent comme il a déjà été décrit, mais restent indifférenciées à leur place normale. Nous vérifions encore que le pouvoir inducteur de l'uretère primaire a un champ très limité.

La lumière du canal disparaît, mais la disposition cellulaire rayonnante compacte est conservée. On distingue aisément l'uretère primaire grâce à la présence de grains de pigment brun dans ses cellules. Ce caractère servira ultérieurement de repère précieux.

Ces diverses observations sont facilitées par la comparaison avec le côté non opéré.

Dans le cas où le pronéphros a été conservé, ainsi que la continuité de l'uretère primaire (variation de l'expérience précédente) le canal augmente de volume. Sa lumière est considérablement agrandie et ses parois sont distendues. Le pronéphros attenant est également le siège d'une hydronéphrose intense. Le canal est fortement hyperplasié. Sur coupes, plus du double du nombre normal des cellules est dénombré. On note, avec plus d'importance que précédemment, quelques amas de cellules mésoblastiques, totalement indifférenciées et sans organisation. Les effets sur les cellules mésonéphrétiques sont identiques à ceux qu'on observe dans la première variante de l'opération.

b) *Déplacement en direction postérieure (en regard du blastème à compétence mésonéphrétique) de la partie antérieure dianéphrétique de l'uretère primaire.*

Technique utilisée (fig. 20). — L'uretère primaire (*up*) est découvert immédiatement en arrière du pronéphros, par une légère incision ectodermique (*a*). Le canal est sectionné à ce niveau. Ensuite, un petit lambeau d'ectoderme est soulevé

au-dessus du point de jonction du canal avec le rectum (*b*). Le canal est sectionné au niveau de son débouché cloacal. Par le bout postérieur détaché, on tire alors le canal avec précaution afin de le déplacer, en totalité, par glissement. Les deux

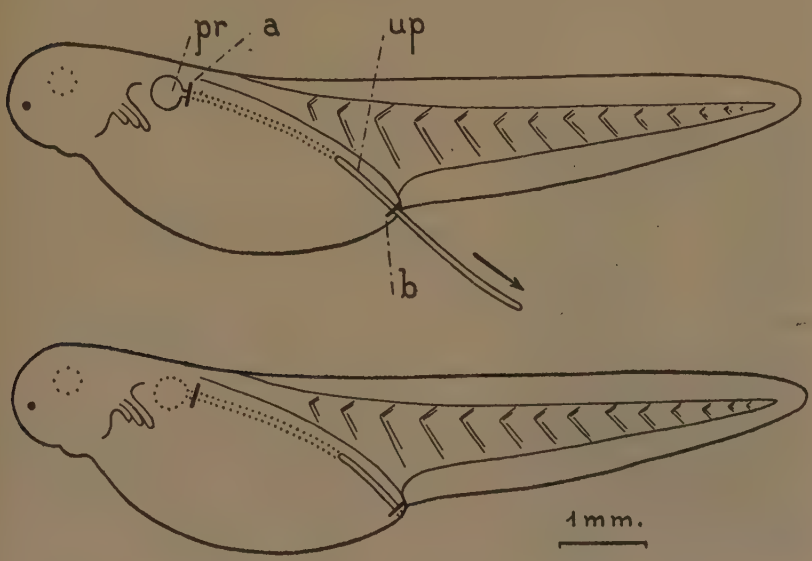


Fig. 20. — Déplacement, par glissement en direction postérieure, de la partie antérieure de l'uretère primaire.

a, *b*, incisions ectodermiques; *pr*, pronéphros; *up*, uretère primaire.

tiers environ du conduit sont tirés hors du têtard. On sectionne alors l'uretère primaire au niveau de l'incision (*b*). On enlève enfin le pronéphros (*pr*).

L'opération a été réussie chez 9 larves.

Résultats. — Dans tous les somites normalement mésonéphrogènes en regard desquels la portion antérieure de l'uretère primaire a été amenée expérimentalement, le mésonéphros subit une morphogenèse initiale absolument normale, quel que soit le côté de l'opération. Les premières condensations cellulaires, l'organisation tubulaire précoce apparaissent normalement (fig. 21).

Chez les quelques têtards opérés avec succès nous ne pouvons pas affirmer qu'une communication existe entre unités mésonéphrétiques formées et uretère primaire déplacé, à cause de l'incertitude d'interprétation de certaines images histologiques. Les fixations ont été effectuées trop tôt (20 jours au plus après l'opération) pour nous permettre d'être affirmatif à ce sujet. Par contre, il nous paraît certain que l'extrémité du conduit déplacé ne se met pas en communication avec le cloaque, malgré leurs rapports de contiguité.

Le fragment de conduit isolé possède une lumière de taille réduite par

rapport à la normale. Ses cellules contiennent de nombreux grains de pigment brun, ce qui permet de le reconnaître avec facilité.

La totalité de l'uretère primaire, même sa région dianéphrétique, possède donc le pouvoir d'induire des formations néphrétiques dans des blastèmes compétents. Ce pouvoir n'est pas restreint (comme on aurait pu s'y attendre puisque la portion antérieure de l'uretère primaire ne persiste pas),

Fig. 21. — Coupe transversale après déplacement, dans la région mésonéphrétique, de la partie antérieure de l'uretère primaire (15 jours après l'opération). — Remarquer l'induction normale exercée par la partie antérieure de l'uretère primaire (*up ant*), expérimentalement déplacée dans la région mésonéphrétique. × 100.

bl_1 et bl_2, blastèmes mésonéphrétiques, côté gauche et droit; *up ant*, partie antérieure de l'uretère primaire, déplacée en position postérieure; *up g*, uretère primaire gauche.

à la portion wolffienne. Dans le mésonéphros qui se développe expérimentalement sous l'influence de la portion dianéphrétique de l'uretère primaire, les étapes initiales de la morphogenèse se succèdent néanmoins dans l'ordre et les délais normaux. Rien n'indique donc, contrairement à ce qu'on aurait pu penser, qu'il y ait une variation du pouvoir inducteur de l'uretère primaire suivant les régions.

Influence des blastèmes mésonéphrogènes sur l'état de l'uretère primaire.

Les expériences précédentes ont démontré que l'uretère primaire exerce sur les blastèmes mésonéphrétiques une action très importante. D'un autre côté, l'étude des opérés révèle une influence de sens inverse de la précédente, que les blastèmes exercent sur l'uretère primaire.

Après l'ablation du pronéphros, l'uretère primaire conserve une structure à peu près normale au niveau des somites mésonéphrogènes alors que sa partie antérieure s'atrophie et dégénère progressivement. Cette portion antérieure, amenée expérimentalement à la place exacte du canal de Wolff, dans la région postérieure, ne subit au contraire qu'une atrophie légère, mais conserve une lumière et ne dégénère pas. Les blastèmes mésonéphrétiques exercent donc, sur la portion d'uretère primaire située en regard, une action conservatrice.

Dans l'expérience inverse de la précédente, le canal de Wolff proprement

dit a été tiré vers l'avant et amené à la place exacte de la portion dianéphrétique de l'uretère primaire. Dans cette position, le canal de Wolff subit un début d'atrophie, mais ne dégénère pas.

Nous sommes désormais en mesure d'expliquer les différences qu'on observe dans l'évolution de la partie antérieure et de la partie postérieure de l'uretère primaire.

Il existe, d'abord, une différence intrinsèque de potentialité entre ces deux régions, la structure tubulaire étant plus stable dans la région postérieure (canal de Wolff) que dans la région antérieure. Cette différence est fortement accentuée par la présence, au niveau du canal de Wolff seul, de blastèmes doués d'un pouvoir conservateur général sur la structure tubulaire de la totalité de l'uretère primaire.

4. — *Détermination expérimentale de la distance à laquelle peut s'exercer l'action inductrice de l'uretère primaire sur le mésonéphros.*

Les différentes portions de l'uretère primaire sont douées de pouvoir inducteur sur les blastèmes mésonéphrétiques. D'après les résultats de certaines expériences précédentes, il semble que l'induction ne peut s'exercer que si les blastèmes compétents sont voisins de l'uretère primaire. Il est nécessaire désormais de préciser expérimentalement cette notion. Ce but a été atteint par des expériences de déviation de l'uretère primaire (Cambar, 1947 *f*).

Nous considérons ce type d'expérience comme le plus important et le plus démonstratif à la fois de tous ceux que nous avons effectués. Aussi avons-nous apporté un soin opiniâtre à sa réalisation. Malgré notre habitude du matériel et des techniques microchirurgicales appliquées aux embryons et larves d'Amphibiens, nous n'avons réussi cette opération que 13 fois sur plus de 400 opérés.

L'opération consiste à dévier l'uretère primaire de sa position normale, tout en conservant intactes ses connexions avec le pronéphros et le cloaque. La capacité fonctionnelle du canal reste inaltérée. Du pronéphros au cloaque, l'uretère primaire est à peu près rectiligne, ce qui interdit toute déviation, même légère, sans élongation. Cette dernière ne pourrait être obtenue sans étirement du conduit, d'où lésions d'importance variable, ou même déchirures de ce dernier. Un artifice opératoire apporte une solution satisfaisante.

Technique utilisée (fig. 22). — Nous employons les larves de Grenouille agile, dégangnées au cours des 12 heures qui précèdent l'éclosion spontanée.

On découpe un lambeau d'ectoderme (*i*) au-dessus de la partie postérieure du pronéphros (*pr*), de façon à mettre en évidence les dernières circonvolutions du tube collecteur et le début de l'uretère primaire (*up*). Au moyen de fines aiguilles (sous la loupe binoculaire G = 57), nous déroulons avec précaution les dernières circonvolutions du tube collecteur. Ce dernier est à peu près de même calibre que l'uretère primaire qui lui fait suite. De la sorte, l'uretère primaire se trouve allongé de la portion du tube collecteur déroulée (*tcd*). Cet allongement permettra de dévier le canal sur toute sa longueur.

De proche en proche, au moyen de fins crochets de fil (*f*) d'argent-nickel (calibre : 0,05 mm.) glissés sous l'ectoderme à partir de très courtes incisions ectoder-

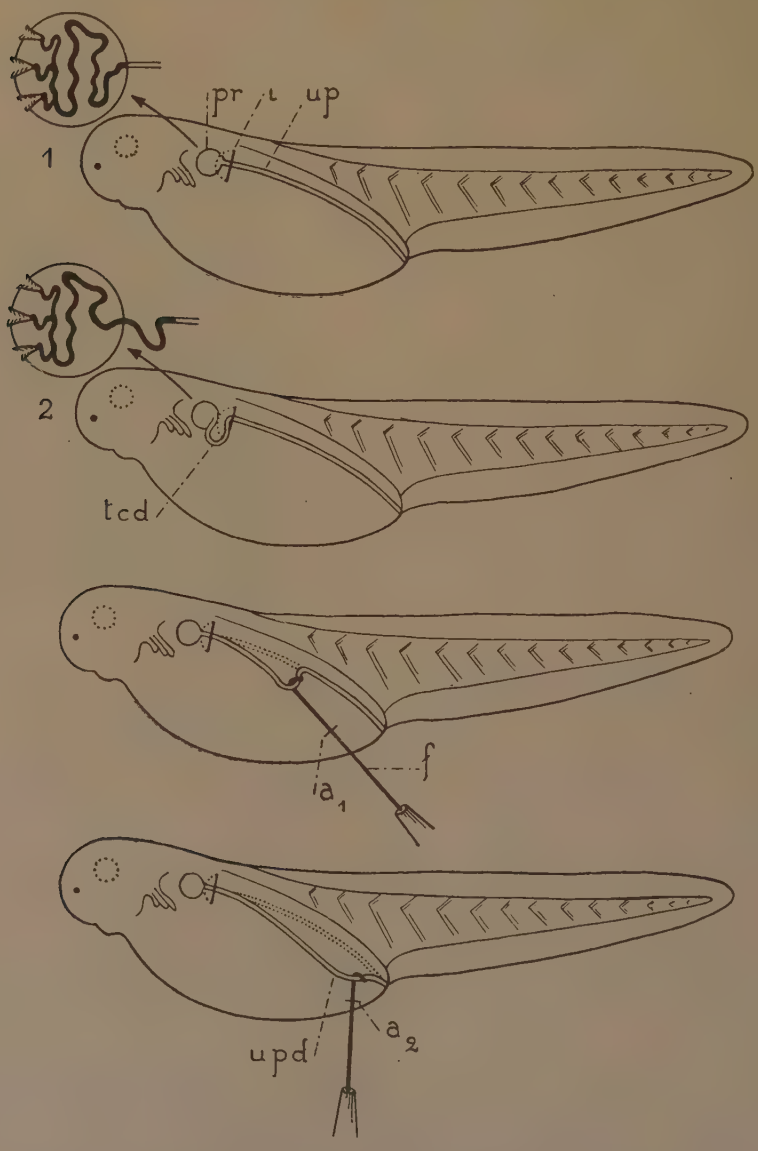


Fig. 22. — Technique de déviation de l'uretère primaire.

1 et 2, schéma du pronéphros avant et après le déroulement d'une partie du tube collecteur (en noir, le tube collecteur) ; a_1, a_2, incisions ectodermiques latérales; *i*, incision ectodermique et soulèvement d'un lambeau d'ectoderme; *f*, fil d'argent-nickel; *pr*, pronéphros; *up*, uretère primaire; *upd*, uretère primaire dévié; *tcd*, tube collecteur déroulé.

miques latérales (telles que a_1, a_2), on déplace le conduit de sa position normale en direction soit latérale, soit latéro-ventrale. Il en est ainsi jusqu'au voisinage du débouché cloacal laissé intact.

A ce dernier niveau, la partie wolffienne de l'uretère primaire est de moins en moins déviée et se rapproche vers l'arrière, de plus en plus, des blastèmes mésonéphrétiques (qui ont conservé leur situation typique à la racine du mésentère) jusqu'à être normalement à leur contact près du cloaque. Une telle déviation, d'abord très importante, puis de plus en plus faible jusqu'à devenir nulle, permet de déterminer la distance maxima à laquelle peut s'exercer le pouvoir inducteur de l'uretère primaire sur le mésonéphros.

Nous avons réalisé des déviations soit progressives, soit brusques, afin de permettre une meilleure analyse des résultats. Nous donnons une reconstruction graphique de chaque type d'opération.

Résultats. — L'uretère primaire légèrement dévié reste entièrement fonctionnel et inaltéré, ou ne subit que des altérations faibles. Il peut présenter néanmoins quelques légères constrictions locales, conséquences probables de la méthode opératoire.

Si la déviation est très accentuée, l'uretère primaire s'altère progressivement. Ses parties moyenne et antérieure (comme on l'a précédemment signalé) s'atrophient alors que sa portion postérieure reste peu modifiée (voir fig. 25). Le pronéphros n'étant plus normalement drainé subit une hydronéphrose importante.

De toute façon ces altérations subies par le canal apparaissent seulement une dizaine de jours environ après l'opération. La morphogenèse initiale du mésonéphros s'effectue donc en présence d'un uretère primaire à peu près normal, mais artificiellement éloigné. Nous savons, d'ailleurs, que le pouvoir inducteur est indépendant du degré d'atrophie du conduit. L'apparition plus précoce des troubles n'amoindrirait donc pas la valeur de l'expérience.

Suivant le mode de déviation on retrouve l'uretère primaire soit sur le bord externe des myotomes, soit sur le côté dorso-externe du cœlome.

Dans toute la région où l'uretère primaire n'est pas en position typique, le mésonéphros reste à l'état de blastèmes de petite taille et indifférenciés. *Il est donc indispensable que l'uretère primaire soit très voisin des blastèmes mésonéphrogènes pour que s'effectuent leur croissance et leur différenciation.* Toute possibilité d'action inductrice s'exerçant à grande distance doit être écartée.

L'examen détaillé de certaines déviations très graduelles ou, au contraire, brusques, permet une étude plus précise.

Dans le sens transversal (voir fig. 23) si la distance séparant le bord interne de l'uretère primaire du bord externe des blastèmes mésonéphrétiques dépasse 100-120 μ, *aucune* action inductrice ne peut s'exercer. Cette dernière commence à se manifester vers 90-100 μ. On remarque (fig. 23) une multiplication des cellules du blastème, puis un début de différenciation à l'approche du conduit. Enfin l'action inductrice devient normale à partir de 70-80 μ soit, environ, le calibre externe de l'uretère primaire lui-même (en moyenne : 60 -70 μ).

La figure 24 représente l'aspect schématique de coupes transversales effectuées aux niveaux représentés sur la figure 23 par les lettres correspondantes *a*, *b*, *c*, *d*.

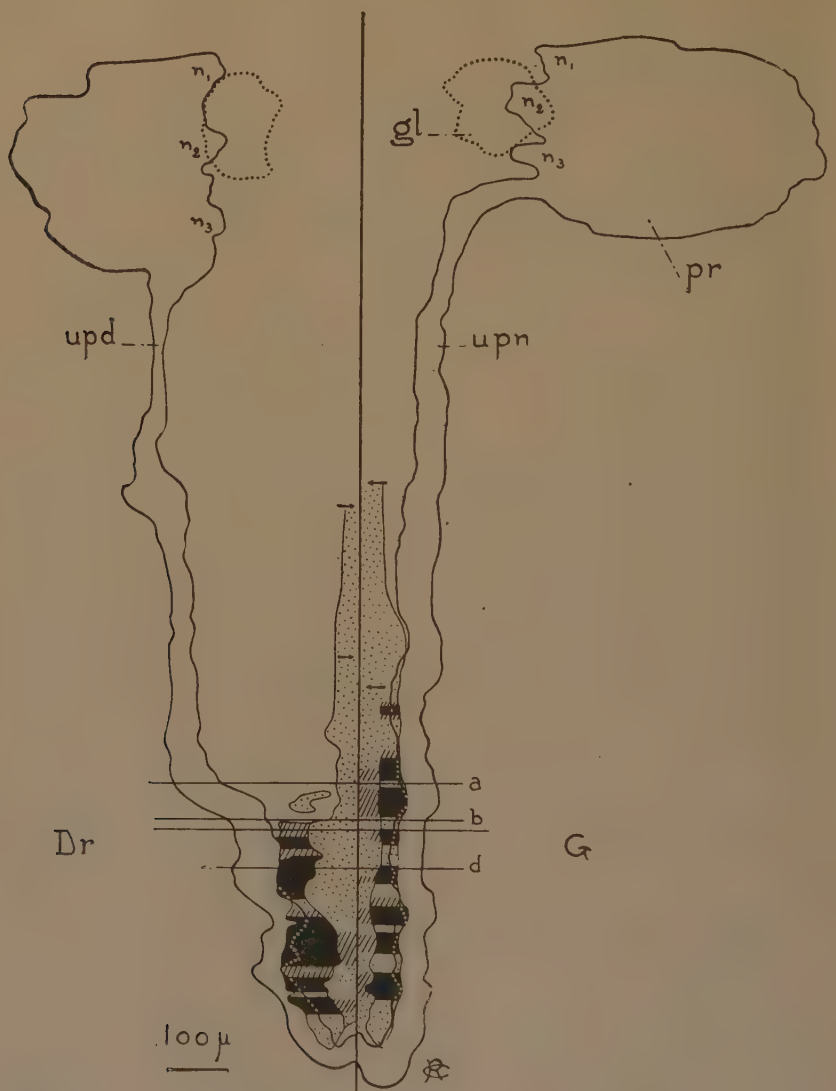


Fig. 23. — Reconstruction graphique du système néphrétique, 15 jours après déviation progressive de l'uretère primaire (du côté droit).

Étapes successives du développement du mésonéphros : *pointillé :* cellules indifférenciées, structure lâche; *hachuré :* cellules en voie de différenciation et de multiplication, structure compacte; *en noir :* unités mésonéphrétiques en voie d'édification, structure tubulaire (Les flèches transversales indiquent les limites des gonades). *a*, *b*, *c*, *d*, niveaux des sections transversales représentées à la figure 24; *gl*, glomus; n_1, n_2, n_3, ouverture des trois néphrons pronéphrétiques (néphrostomes); *pr*, pronéphros; *upd*, uretère primaire dévié; *upn*, uretère primaire normal.

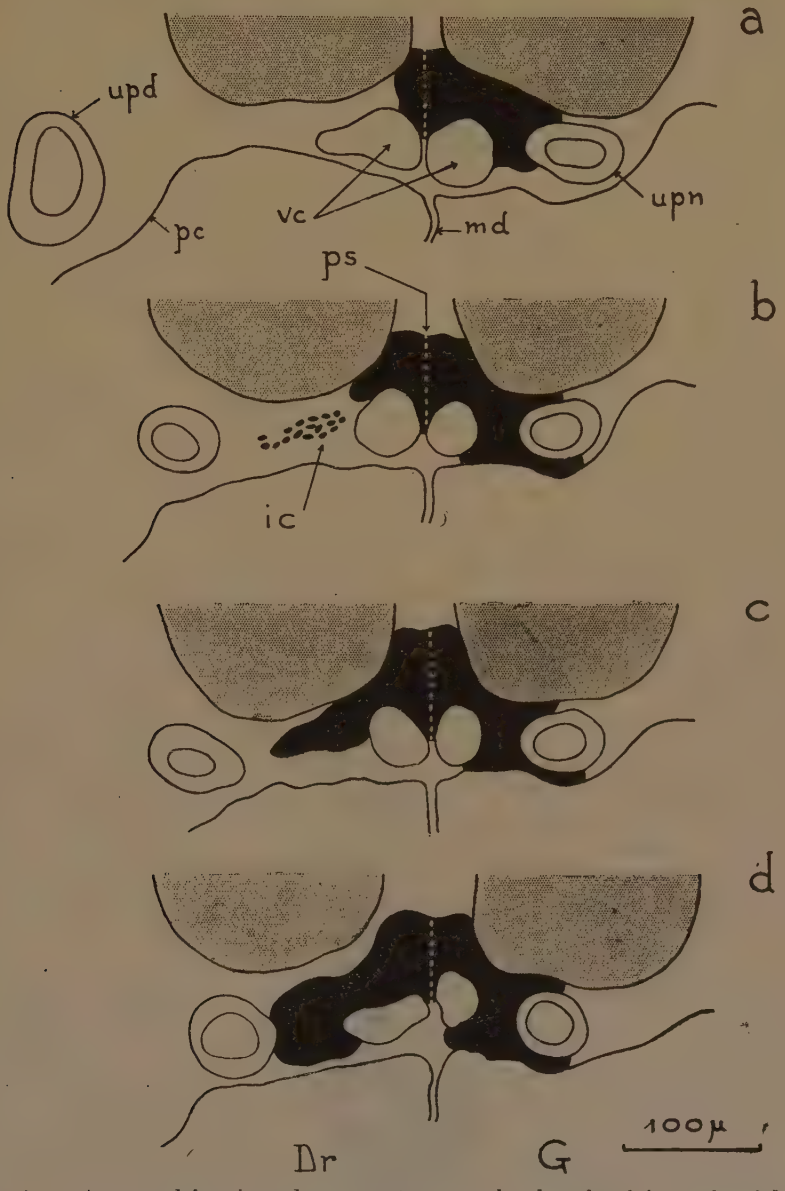


Fig. 24. — Aspect schématique de coupes transversales dans la région mésonéphrétique, après déviation de l'uretère primaire (du côté droit) (Ces schémas sont des calques de dessins exécutés à la chambre claire). Les niveaux des sections représentées sont ceux exactement indiqués par les lettres correspondantes (*a*, *b*, *c*, *d*) portées sur la reconstruction graphique de la figure 23. *En noir : mésonéphros*; *en grisé :* myotomes.

ic, îlot de cellules mésonéphrogènes. La dimension de ces cellules a été volontairement exagérée, pour la clarté du schéma; *md*, mésentère dorsal; *pc*, paroi dorsale du cœlome; *ps*, trace du plan de symétrie bilatérale (en pointillé blanc); *upd*, uretère primaire dévié; *upn*, uretère primaire normal; *vc*, veines cardinales.

Reproduites avec une grande exactitude elles confirment les données numériques précédentes.

Dans le sens antéro-postérieur, la distance est encore plus faible. Elle a pu être mesurée grâce aux expériences dans lesquelles l'uretère primaire quitte sa position normale par un coude brusque (voir fig. 25). A une

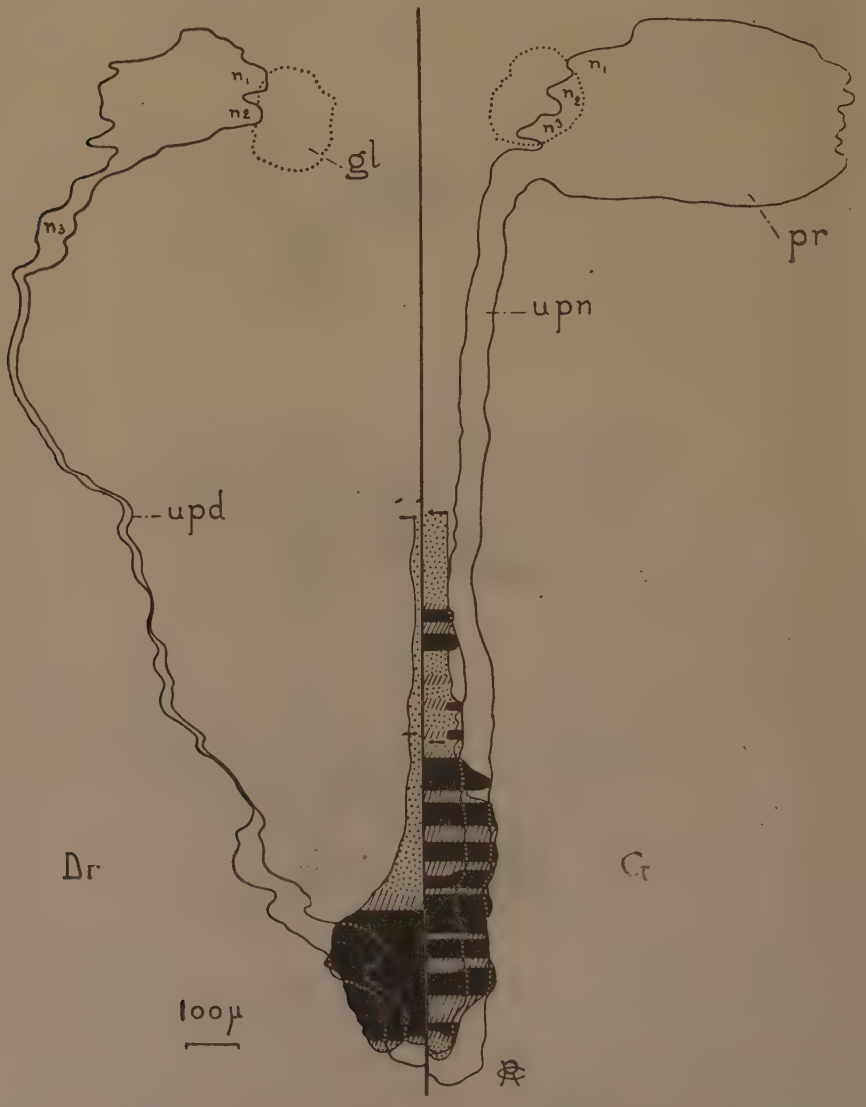


Fig. 25. — Reconstruction graphique du système néphrétique, 20 jours après déviation brusque de l'uretère primaire (du côté droit) (Même légende que pour la figure 23). Ici le troisième néphron (néphrostome : n_3) a été tiré exceptionnellement hors de la masse pronéphrétique pour réaliser une déviation très étendue.

distance de 30-40 μ antérieurement au coude, les blastèmes restent de petite taille et indifférenciés (1).

Remarque sur les figures 23 et 25 : ces deux figures représentent chacune une reconstruction graphique du système néphrétique après déviation unilatérale, progressive ou brusque, de l'uretère primaire. Les deux cas dessinés sont relatifs à une opération effectuée du côté droit. Ce choix a pour but de rendre l'expérience encore plus démonstrative. En effet, le mésonéphros droit se développe normalement plus vite que le gauche. Cette prédominance est très nette à la partie inférieure des deux figures, aux niveaux où les deux uretères primaires ont conservé leur position normale. L'arrêt expérimental du développement du côté opéré n'en est que plus significatif.

5. — *Augmentation du pouvoir inducteur d'un seul côté, par greffe additive d'un second uretère primaire le long d'un conduit normal.*

Nous avons essayé de renforcer d'un côté le pouvoir inducteur exercé sur les blastèmes mésonéphrétiques par l'uretère primaire situé en position normale. Pour cela nous avons greffé un uretère primaire surnuméraire parallèlement au conduit fonctionnel.

Cette expérience a pour but de rechercher si l'intensité de la réponse des blastèmes mésonéphrétiques dépend ou non de l'intensité du pouvoir inducteur de l'uretère primaire.

Plusieurs types de greffes ont été effectuées le long de l'uretère primaire normal : greffe dite « de même sens » (le conduit est placé dans la position qu'il occupait normalement), greffe dite « de sens contraire » (la partie du conduit originellement proche du pronéphros est placée au voisinage du cloaque), greffe dite « mixte » (le conduit est greffé, plié en deux, dans la région mésonéphrétique, ses bouts antérieur et postérieur étant voisins). Le plus souvent les têtards donneur et récepteur sont de même âge (quelques heures avant l'éclosion spontanée). Parfois le conduit, prélevé à ce dernier stade, a été greffé sur un têtard au stade de bourgeon caudal.

Technique utilisée. — Les deux embryons, donneur et récepteur, sont placés côte à côte. Sur le têtard porte-greffe, on pratique d'abord deux courtes incisions ectodermiques (*a* et *b*, voir fig. 26) au-dessus de l'uretère primaire normal, et débordant légèrement en direction ventrale. Pénétrant par (*b*) et sortant par (*a*), on glisse sous l'ectoderme un fil d'argent-nickel (calibre : 0,05 mm.) terminé par un petit crochet. Au préalable, ce fil aura été légèrement courbé de façon à être exactement superposable au cours de l'uretère normal. On prépare ainsi le logement du conduit greffé.

On prélève alors l'uretère primaire sur le têtard donneur. Par enlèvement de l'ectoderme et du feuillet cœlomique, on découvre rapidement le conduit. On le détache au moyen de fins crochets de verre; on le sectionne enfin en arrière du

(1) En réalité, cette distance varie avec l'angle d'inclinaison de l'uretère primaire par rapport à l'axe antéro-postérieur du têtard. Le chiffre indiqué n'a donc une valeur absolue que pour la déviation représentée à la figure 25. Il ne varierait que faiblement pour des déviations de même type.

pronéphros et au niveau de son débouché cloacal. On prend bien soin de ne prélever en même temps aucun tissu voisin du conduit. Ce dernier est transporté près de l'incision (*a*).

On engage le canal dans le crochet de fil d'argent, au tiers environ de sa longueur (voir fig. 26) ou au milieu de celle-ci suivant le type de greffe (greffe « de même sens » ou « de sens contraire » dans le premier cas, suivant la partie du canal saisie par le crochet, greffe « mixte » dans le second cas). Au moyen du fil d'argent, on fait alors glisser le canal le long du conduit normal. Lorsque l'opération est presque terminée, on tient immobile, avec une pince, l'extrémité du conduit avant qu'elle ne disparaisse par l'incision (*a*), et on continue, lentement

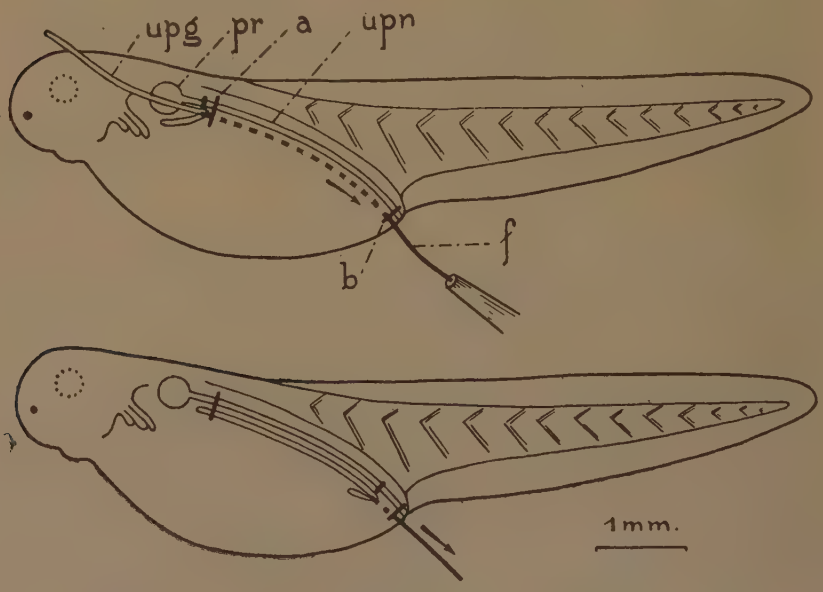


Fig. 26. — Technique de greffe d'un uretère primaire le long d'un conduit fonctionnel.

a, *b*, incisions ectodermiques; *f*, fil d'argent-nickel; *pr*, pronéphros; *upg*, uretère primaire greffé; *upn*, uretère primaire normal.

et sans saccades, à tirer le crochet. De ce fait, l'extrémité du conduit glisse autour du crochet, et se déplie progressivement. Le conduit greffé se trouve ainsi placé tout le long de l'uretère primaire normal. On peut, au besoin, rectifier sa position par glissement, en tirant avec précautions l'une ou l'autre de ses extrémités.

Pour la greffe dite « mixte », on libère simplement le crochet de fil d'argent, laissant le conduit plié en place.

Nombre d'opérations pratiquées : greffes « de même sens » : 22; greffes « de sens inverse » : 12; greffes « mixtes » : 30.

Exceptionnellement, nous avons réalisé trois greffes « de même sens » doubles (deux conduits greffés côte à côte) et deux triples (trois canaux greffés).

Résultats. — On retrouve souvent l'uretère primaire greffé (40 o/o des cas environ) dans la situation prévue d'après l'opération : angle externe de la base des myotomes à une distance variant de 50 à 150 μ du conduit

normal. Parfois, il est rejeté sur les bords du cœlome, dans sa partie dorsale ou latérale. La greffe du conduit est pratiquée à un stade précoce où les deux feuillets cœlomiques ne sont pas encore séparés. Il arrive parfois que le greffon, au lieu d'être insinué correctement sous la splanchnopleure soit placé par erreur extérieurement à la somatopleure, ce qui entraînera son déplacement vers la paroi du corps lors du creusement du cœlome.

L'uretère primaire greffé subit, dans tous les cas, une atrophie lente et progressive. Quel que soit le type de greffe pratiqué, la désorganisation de la partie originellement antérieure est la plus rapide et la plus importante : oblitération du conduit, désordre et dispersion cellulaires. La partie wolffienne conserve plus longtemps son aspect typique.

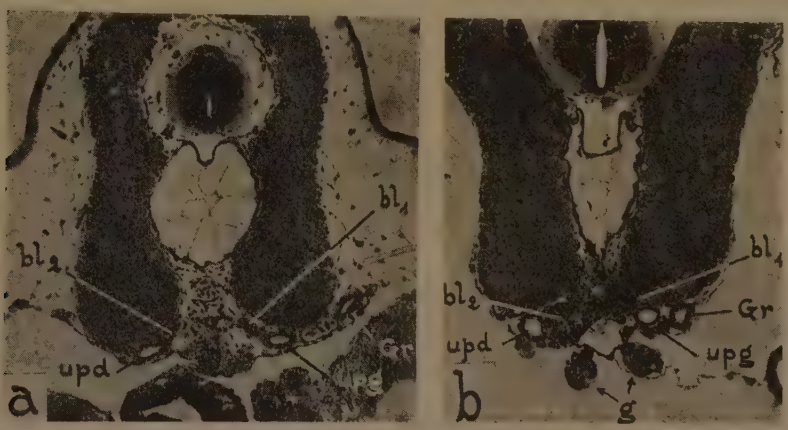


Fig. 27. — Coupes transversales après greffe additive d'un uretère primaire le long d'un conduit normal. *a*, 10 jours; *b*, 25 jours après l'opération.

Le conduit greffé (*Gr*) est éloigné du conduit normal et du blastème mésonéphrétique (*a*), ou au voisinage immédiat du conduit normal (*b*) (Noter l'absence d'accélération du développement du mésonéphros du côté où le conduit est greffé). × 100.

bl_1 et bl_2, blastèmes mésonéphrétiques, côtés gauche et droit; *g*, gonade; *Gr*, uretère primaire greffé; *up d*, uretère primaire droit; *up g*, uretère primaire gauche.

Nous savons déjà que l'uretère primaire ne peut exercer son pouvoir inducteur qu'à une faible distance des blastèmes mésonéphrétiques (80 à 100 μ au maximum). On ne doit donc pas s'attendre à ce que les greffons exercent une action s'ils ne sont pas situés au voisinage des blastèmes compétents et, au plus, à la distance maxima à laquelle leur pouvoir inducteur peut se manifester (1). Chez quelques opérés, l'uretère primaire greffé se trouve à une distance des blastèmes mésonéphrétiques qui permettrait une action inductrice. Même dans ces cas l'opération n'a eu aucune

(1) Rappelons que le pouvoir inducteur de l'uretère primaire est indépendant de son état fonctionnel et de son degré d'atrophie.

influence sur la morphogenèse du mésonéphros voisin. On n'observe ni accélération du développement, ni augmentation de taille des structures mésonéphrétiques édifiées après la greffe. Une augmentation du matériel inducteur n'augmente donc pas les effets d'induction (fig. 27 *a*, *b*).

Les résultats sont identiques après greffe précoce, au stade de bourgeon caudal, d'un uretère primaire prélevé à un stade plus tardif (éclosion).

Les expériences de greffe d'uretère primaire surnuméraire constituent, d'un autre point de vue, une contre-épreuve aux expériences d'ablation de l'uretère primaire. Nous avons vu qu'en l'absence d'uretère primaire la migration des cellules mésonéphrogènes et l'édification des premiers blastèmes s'effectuent cependant normalement. Elles s'effectuent également d'une manière normale en présence de *deux* uretères primaires. Il est donc certain que la mise en place des blastèmes est un phénomène entièrement distinct de leur détermination, et indépendant de l'uretère primaire (1). Les facteurs qui dirigent la mise en place des cellules mésonéphrogènes initiales restent inconnus.

6. — *Le pouvoir inducteur de l'uretère primaire peut-il s'exercer sur des cellules de potentialités non néphrétiques ?*

La réponse est donnée par des expériences variées de greffes d'uretère primaire.

Des fragments ou la totalité d'un uretère primaire ont été greffés sous l'ectoderme, en divers endroits du corps : au niveau des myotomes ou des plaques latérales, plus ou moins ventralement, également sur la queue (le conduit est orienté parallèlement à l'axe antéro-postérieur du corps).

L'uretère primaire est toujours prélevé avant l'éclosion spontanée, c'est-à-dire avant que les cellules mésonéphrétiques se différencient et se multiplient sous l'influence inductrice du conduit. La greffe est effectuée, le plus souvent, sur des têtards au même stade, ou bien sur des embryons au stade du bourgeon caudal.

La technique utilisée est identique à celle précédemment décrite.

Résultats. — Quelle que soit la qualité des tissus expérimentalement mis en contact avec l'uretère primaire greffé, nous n'avons jamais observé de formation ni même de préorganisation tubulaires en quelque endroit que la greffe ait été effectuée. Si, parfois, on peut remarquer certains amas de cellules mésenchymateuses au voisinage du conduit, jamais ces cellules ne subissent même un début de différenciation. Leur rassemblement nous paraît une conséquence des traumatismes opératoires.

Les résultats sont également négatifs après greffe précoce (sur un

(1) Nous n'avons *jamais* observé de formations tubulaires au contact ou au voisinage du conduit surnuméraire. Néanmoins, on peut remarquer, parfois, quelques amas peu importants de cellules indifférenciées et disposées sans ordre. Ces condensations cellulaires doivent être interprétées, à notre avis, comme des réactions mésenchymateuses locales causées par de minimes altérations dues à l'opération. Ces amas cellulaires chaotiques sont, en effet, principalement localisés vers les extrémités du conduit greffé. Leur apparition est capricieuse, et se manifeste, sous le même aspect, quel que soit le type de greffe ou la situation du conduit greffé.

embryon au stade de bourgeon caudal) d'un uretère primaire prélevé à un stade plus tardif.

Nous n'avons jamais observé (contrairement à ce qui a été parfois décrit) de communication entre l'uretère primaire greffé et des structures intestinales ou ectodermiques, quelle que soit l'intimité du contact expérimentalement provoqué.

Le pouvoir inducteur de l'uretère primaire est électif ; il ne peut s'exercer que sur des cellules mésonéphrétiques présomptives.

Remarques sur les facteurs du maintien de la structure tubulaire dans les diverses régions de l'uretère primaire. — Au cours des différentes expériences que nous avons exposées, nous avons constaté que la structure tubulaire de l'uretère primaire n'a pas une stabilité absolue. Lorsque, pour des raisons qui peuvent varier, ce canal n'est plus fonctionnel, sa lumière diminue progressivement. Le degré d'atrophie est très différent, dans des conditions identiques, pour la région antérieure (dianéphrétique) et la région postérieure (wolffienne).

L'écoulement du liquide excrété par le pronéphros est le facteur essentiel de la conservation de l'organisation tubulaire de l'uretère primaire antérieur (1). Cette partie antérieure involue de la même façon, qu'elle soit isolée en position typique ou transplantée en diverses parties du corps.

Le degré de stabilité de la structure de cette région ne dépend donc pas de ses relations topographiques, mais est une propriété intrinsèque de ses cellules. Il n'en était pas ainsi à des stades plus précoces. Les expériences faites par divers chercheurs (expériences qui n'ont pas été envisagées dans le présent travail) (2) ont en effet établi l'importance des relations topographiques au cours des premières étapes de la morphogenèse de l'uretère primaire.

La partie postérieure (wolffienne) de l'uretère primaire, au contraire, est très peu influencée par l'écoulement du liquide pronéphrétique. Isolée en position typique elle n'est que faiblement altérée.

Les altérations sont légèrement, mais nettement, plus accentuées lorsque le canal de Wolff est déplacé de sa position normale en regard des blastèmes mésonéphrétiques. Les relations topographiques jouent donc un rôle dans le maintien de la structure normale de la partie postérieure de l'uretère primaire, contrairement à ce qui a été établi pour la partie antérieure. Nous avons montré précédemment que les blastèmes mésonéphrétiques exercent une action conservatrice sur la structure tubulaire de toute portion d'uretère primaire voisine (Cambar, 1948 *a*).

Signalons un intéressant résultat fourni par la greffe d'un uretère primaire entier sous l'ectoderme de la queue, au moment de l'éclosion

(1) Chez les Éponges en voie de reconstitution, Fauré-Frémiet (1932) établit l'existence d'une « action mécanomorphique » du courant liquide issu des chambres flagellées. De plus, ce courant « est indispensable à l'entretien du réseau canaliculaire », ce dernier involue entièrement dès que l'eau ne circule plus.

(2) L'étude des facteurs de la morphogenèse du système pronéphrétique des Amphibiens a fait l'objet d'une mise au point (sous presse, Cambar, 1948, *b*).

(fig. 28 *a*, *b*, *c*). Le conduit est placé le plus souvent sous la chorde dorsale, dans le mésenchyme. Nous savons que, greffé en position typique, l'uretère primaire s'atrophie de façon graduelle mais variable suivant les portions considérées. Dans le cas présent, la région originellement voisine du pronéphros s'altère rapidement : oblitération du tube, désorganisation cellulaire, diminution importante du nombre des cellules. Par contre la

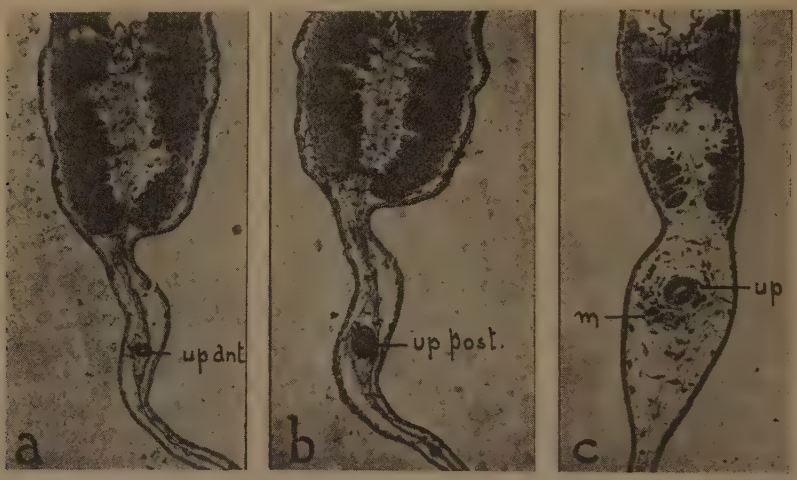


Fig. 28. — *a*, *b*, *c*, coupes transversales de la queue après greffe (à l'éclosion) de l'uretère primaire.

a, *b*, 15 jours après la greffe; deux sections du même uretère primaire, à deux niveaux différents; *c*, 20 jours après la greffe. — Remarquer l'absence de condensations cellulaires autour de l'uretère primaire (*a* et *b*). — Les photographies *a* et *b* montrent la différence de la rapidité d'involution du conduit, selon les niveaux. La photographie *c* montre des cellules mésodermiques (*m*) au contact de l'uretère primaire. Elles sont disposées sans ordre et totalement indifférenciées. × 100.

m, amas des cellules mésodermiques; *up ant*, portion originellement antérieure de l'uretère primaire; *up post*, portion originellement postérieure (wolffienne) du même uretère primaire; *up*, uretère primaire.

région originellement wolffienne conserve longtemps sa structure tubulaire, bien que son calibre soit réduit. Ces résultats sont identiques, que la greffe soit « de même sens », « de sens contraire » ou « mixte ».

Dans ce dernier cas (uretère primaire greffé, plié en deux parties accolées), les résultats sont particulièrement démonstratifs, puisqu'une même section permet d'observer l'involution différente des deux parties originellement antérieure et postérieure, mais expérimentalement voisines.

III. — Conclusions.

Initialement situées au niveau de la racine dorsale du mésentère dans les somites postérieurs du tronc, les cellules mésonéphrétiques présomptives émigrent (1) de chaque côté au-dessus de la veine cardinale pour se condenser en blastèmes au contact de l'uretère primaire. Cette première phase, qui correspond à la mise en place du matériel néphrogène présomptif, se déroule indépendamment de la présence de l'uretère primaire. Elle est sous l'influence de facteurs encore inconnus.

L'uretère primaire joue un rôle inducteur capital (2) au cours des étapes ultérieures de la morphogenèse du mésonéphros. Il provoque la différenciation, la multiplication et l'organisation tubulaire des blastèmes primordiaux, lesquels, en l'absence de l'inducteur, restent de petite taille et indifférenciés.

Tout fragment de l'uretère primaire, même situé dans la partie dianéphrétique antérieure et, de ce fait, normalement sans rapport avec le mésonéphros, est doué, à un même degré semble-t-il, de pouvoir inducteur sur tout blastème mésonéphrétique présomptif.

Par conséquent, la localisation du mésonéphros uniquement au niveau de certains somites du tronc est due à une localisation correspondante non pas de l'inducteur, mais de blastèmes doués d'une réactivité, d'une « compétence » élective. L'existence d'une zone étendue (« dianéphrétique ») non néphrogène, entre pro- et mésonéphros semble donc avoir uniquement pour cause l'absence, à ce niveau, de matériel néphrétique présomptif compétent. Pour cette raison, comme pour d'autres (voir Dalcq, 1942) la valeur embryologique de la notion de « pièce intermédiaire » du mésoderme paraît amoindrie.

Le conduit conserve son rôle inducteur sur le matériel mésonéphrétique, quel que soit son état fonctionnel ou son degré d'atrophie, et quelle que soit sa position, même atypique.

L'influence inductrice ne peut se manifester que si l'uretère primaire est au voisinage immédiat des blastèmes mésonéphrétiques. Si la distance séparant le conduit des blastèmes dépasse 100-120 μ, aucune action inductrice ne se manifeste. Cette dernière commence à s'exercer vers 80-100 μ pour acquérir son intensité normale à une distance d'environ 70-80 μ. On peut donc considérer que l'induction ne se manifeste normalement que si

(1) Holtfreter (1944, 1946, 1947, *a* et *b*) aborde dans une étude générale le problème des facteurs assurant la migration et l'agrégation des cellules embryonnaires.

(2) L'uretère primaire n'est pas le seul inducteur actuellement connu de tubes mésonéphrétiques.. En effet, Gruenwald (1942-1943) a montré, chez le Poulet, qu'en l'absence d'uretère primaire, les structures mésonéphrétiques, toujours peu importantes, pouvaient être induites par contact des blastèmes mésonéphrétiques avec du tissu nerveux. Van Geertruyden (1946) décrit quelques faits isolés identiques provoqués, chez *Rana fusca*, par des anomalies expérimentales. Ces faits mériteraient d'être confirmés par des expériences. Ils semblent pouvoir s'interpréter à la lumière de nos conceptions actuelles sur le mode d'action des inducteurs.

l'inducteur et le tissu réactionnel sont en contact. Ce mode d'action de l'inducteur a déjà été démontré dans d'autres cas.

Enfin, le pouvoir inducteur de l'uretère primaire ne peut s'exercer que sur des cellules douées d'une réactivité, d'une compétence spéciales, qui constituent ainsi le matériel présomptif du mésonéphros.

L'inducteur est complètement inapte à provoquer la différenciation, la multiplication et l'organisation tubulaire typique dans du matériel cellulaire de toute autre qualité, quelle que soit la situation de ce dernier ou son degré de différenciation.

En résumé, la morphogenèse du mésonéphros comprend deux phases, séparées par une période de détermination.

La première phase, absolument indépendante de l'uretère primaire, comprend la migration des cellules mésonéphrogènes présomptives et leur condensation au contact de l'uretère primaire.

L'uretère primaire exerce alors son action inductrice sur les blastèmes formés à son contact. Ces derniers, dès ce moment, sont déterminés. Cette période de détermination est courte, un à deux jours nous semble-t-il. De nouvelles expériences seraient nécessaires pour préciser sa durée.

La seconde phase comprend la différenciation, la multiplication des cellules blastématiques induites, l'édification, par complication successive, de tubes mésonéphrétiques normaux. Ces tubes doivent, enfin, être fonctionnels pour qu'ils puissent acquérir et conserver leur structure caractéristique.

QUATRIÈME PARTIE

DISCUSSION GÉNÉRALE

Les expériences que nous avons exposées dans les chapitres précédents démontrent : 1° que le pronéphros n'exerce certainement aucune influence sur le développement du mésonéphros ; 2° que le mésonéphros se différencie sous l'action inductrice de l'uretère primaire.

Les travaux de nos prédécesseurs avaient abouti à des conclusions très variées, souvent différentes des nôtres. A la lumière des faits que nous avons établis, nous allons montrer que les résultats matériels obtenus par les auteurs sont susceptibles d'une interprétation différente de la leur, et qu'ils ne sont nullement contradictoires avec les nôtres. Par conséquent, ils n'entament pas la validité de nos conclusions.

L'affirmation de Howland (1926), selon laquelle le développement du mésonéphros dépend de l'état fonctionnel du système pronéphrétique situé du même côté est erronée. Nous avons démontré, en effet, que la présence ou l'activité physiologique du pronéphros n'exercent aucune action, directe ou non, sur la morphogenèse du mésonéphros.

Waddington (1937) conclut de ses recherches sur le Poulet que le méso-

néphros est partiellement induit par l'uretère primaire (1), et que, ce dernier étant lui-même formé par le pronéphros, c'est en définitive le pronéphros qui est l'agent inducteur indirect du mésonéphros (2).

Waddington étend ces conclusions aux Amphibiens (*Rana fusca*) ; elles doivent être entièrement rejetées aujourd'hui. Chez les Amphibiens il a été démontré, en effet, que la morphogenèse de l'uretère primaire est indépendante du pronéphros. Le conduit s'édifie aux dépens d'un blastème initial indépendant de celui du pronéphros (bien qu'il lui soit adjacent), par un bourgeonnement lui-même indépendant de la présence du pronéphros. Ce dernier n'exerce donc aucune action, même précoce et indirecte, sur le développement du mésonéphros.

Quels sont alors les facteurs de la morphogenèse du mésonéphros ? Nous avons, certes, démontré que le canal de Wolff est l'inducteur des blastèmes mésonéphrétiques, mais la question avait été préalablement discutée de savoir si les blastèmes mésonéphrétiques ne posséderaient pas un pouvoir d'autodifférenciation, complet ou partiel. Nous allons montrer que les faits sur lesquels s'appuyaient les partisans d'une autodifférenciation doivent être interprétés d'une manière différente.

Ainsi, Humphrey (1928, chez *Amblystoma*) par greffe en diverses parties du corps, de portions du mésoblaste latéral comprenant les blastèmes mésonéphrétiques, observe la formation de tubes mésonéphrétiques bien différenciés. Deux critiques importantes peuvent être apportées à ces résultats : le greffon comprend parfois, indubitablement, une portion d'uretère primaire ; — les blastèmes ont subi, avant leur transplantation, l'induction normale par contact avec l'uretère primaire. De ce fait, ces blastèmes sont désormais capables, même placés hétérotopiquement, d'atteindre un stade avancé de développement.

Les conclusions de Shimasaki (1930 *b*, chez *Bufo vulgaris*) ne nous semblent pas plus probantes. Cet auteur pratique l'ablation, soit de l'uretère primaire, soit des blastèmes mésonéphrétiques, transplantant ces derniers avec ou sans uretère primaire. Il conclut avec prudence, mais croit à une capacité d'auto-différenciation du matériel mésonéphrétique, tout en observant une accélération très nette du développement de ce dernier en présence de l'uretère primaire. La technique opératoire utilisée n'est pas exempte de critiques (ablations probablement incomplètes, en particulier). Les résultats des transplantations sont, dans l'ensemble, capricieux. L'interprétation générale, enfin, ne force pas la conviction.

Waddington (1937, chez *Rana fusca*) et Burns (1938, chez *Amblystoma*) concluent à une faible capacité d'autodifférenciation du matériel mésonéphrétique. Mais leur travail est exposé trop succinctement pour être objec-

(1) Chez le Poulet, ce pouvoir inducteur a été mis en évidence par Boyden (1927), puis confirmé par Gruenwald (1937-1942).

(2) Waddington trouve ainsi une explication à la présence du pronéphros chez les Amniotes. Pour cet auteur, malgré la présence fugace et l'incapacité fonctionnelle du pronéphros, cet organe vestigiel est conservé au cours de l'ontogenèse parce qu'il exerce un stimulus morphogénétique important. Ce stimulus induit la formation d'un organe s'édifiant ultérieurement et possédant une importante fonction physiologique : le mésonéphros.

tivement analysé. Pour ces auteurs, le pouvoir inducteur de l'uretère primaire est indubitable, mais des néphrons assez bien développés (surtout chez *Amblystoma*) et disposés en îlots peuvent se différencier en l'absence de conduit. Burns croit pouvoir conclure qu'il existe deux qualités d'unités mésonéphrétiques : les unes, dont le développement est indépendant de l'uretère primaire, les autres devant subir l'influence de ce dernier pour se différencier. Cette interprétation n'a pas été retenue.

O'Connor (1940 *a* et *b*, chez *Amblystoma*) apporte des résultats précis, basés sur une expérimentation rigoureuse. En l'absence *absolue* d'uretère primaire au niveau des somites mésonéphrogènes (obstruction précoce de la croissance de ce dernier) apparaissent des amas de cellules mésonéphrétiques en position normale, mais *jamais* de formations tubulaires. Ces résultats sont opposés à ceux de Burns. Pour O'Connor, deux facteurs du développement exercent successivement leur action : un pouvoir de différenciation des cellules mésonéphrétiques indépendant de l'uretère primaire, conduisant à une séparation de ces cellules à partir du mésoblaste environnant : — un stimulus, émis par l'uretère primaire, responsable de la structure tubulaire. Cette conception est confirmée par Van Geertruyden (1946) et par nous-même. Mais O'Connor admet que, chez certaines espèces d'Amphibiens, le matériel mésonéphrétique est capable d'autodifférenciation partielle. Pour une espèce déterminée, la part qui revient respectivement aux deux facteurs responsables de l'édification du mésonéphros lui paraît imprévisible. Le pouvoir inducteur de l'uretère primaire lui paraissant d'importance variable, O'Connor dresse un tableau récapitulant les divers résultats antérieurs, résultats qui vont, répétons-le, de la complète autodifférenciation du mésonéphros (Humphrey) au développement de ce dernier exclusivement sous la dépendance de l'uretère primaire (O'Connor, 1940 *b*, chez *Pleurodeles*).

L'absence d'autodifférenciation est affirmée par Miura (dès 1930, chez *Rana nigromaculata*) et est reconnue par Van Geertruyden (1946, chez *Rana fusca*) et par Cambar (1947 *e* et *f*, présent travail, chez *Rana dalmatina*).

A priori, il peut sembler que la divergence des résultats provienne non seulement des différentes techniques opératoires (plus ou moins précises), mais surtout des diverses espèces utilisées. L'autodifférenciation paraît être plus fréquente, en effet, chez les Urodèles que chez les Anoures. En fait, nous sommes frappé par la discordance des résultats obtenus, par des auteurs différents, en particulier lorsqu'ils opèrent sur une même espèce animale.

Chez *Rana fusca*, en l'absence d'uretère primaire, Waddington observe des amas importants de cellules mésonéphrétiques. Van Geertruyden ne décrit que des blastèmes fugaces et de petite taille. Chez *Amblystoma*, dans les mêmes conditions, Humphrey note un développement presque complet du mésonéphros, Burns observe des tubes mésonéphrétiques occasionnels. O'Connor remarque des amas cellulaires indifférenciés.

D'autre part, Van Geertruyden, empêchant le développement du conduit *avant* qu'il atteigne la région mésonéphrétique, décrit la mise en place normale des cellules mésonéphrétiques présomptives, *suivie de leur*

dispersion rapide dans le mésenchyme environnant. Nous-même excisons l'uretère primaire déjà développé et venant d'atteindre le cloaque. A ce stade, les cellules mésonéphrétiques, effectuant leur migration, viennent se condenser au contact du conduit (*Rana dalmatina*). Dans ces conditions, nous n'observons jamais la dispersion totale des cellules mésonéphrogènes, qui se retrouvent toujours en position typique. Les blastèmes primordiaux persistent, sans augmentation de taille mais sans réduction notable de celle-ci.

La divergence des résultats semble bien ne pas provenir des espèces animales utilisées, ou encore de la technique opératoire suivie, mais paraît susceptible d'une explication plus générale.

Si l'on note avec précision (autant que le permettent les données fournies par les auteurs) le stade auquel ils ont excisé l'uretère primaire, on constate qu'ils ont pratiqué l'opération à des stades différents et, le plus souvent, après l'établissement du contact normal entre le conduit et les blastèmes mésonéphrétiques. Dans ces diverses expériences, les blastèmes sont donc restés au contact de l'uretère primaire pendant un temps variable suivant les auteurs, extrêmement court dans le cas de nos propres expériences, et ont donc pu subir son action inductrice pendant un temps plus ou moins long. Par conséquent, il n'est pas étonnant que, séparés ensuite (d'ailleurs plus ou moins complètement) de leur inducteur, ils effectuent un développement plus ou moins avancé, puisqu'on sait d'une manière générale que la détermination d'une ébauche une fois acquise, cette ébauche continue désormais son développement par autodifférenciation. Il n'est pas étonnant non plus, que les auteurs aient observé divers degrés d'autodifférenciation. Il est établi pour une série d'organes que la détermination n'obéit pas à une loi de « tout ou rien », mais est un processus graduel, dont certaines étapes ont pu être nettement distinguées, par exemple dans le cas du cœur, ou du cristallin (P. Weiss) (1). Il n'y a donc aucune contradiction dans la diversité des résultats obtenus par les différents auteurs, mais la mise en évidence des étapes d'une détermination par degrés, suivant une règle qui peut être générale.

La discussion de l'unité morphogénétique du pronéphros et du mésonéphros est une question classique. L'état actuel de nos connaissances permet d'examiner cette conception avec de nouveaux arguments, de la préciser, et même de l'étendre en grande partie au métanéphros des Amniotes.

En ce qui concerne le pronéphros, Fales, dès 1935, a montré que deux facteurs distincts interviennent dans sa formation : l'un assurant la struc-

(1) P. Weiss. *Principles of development*, 1939, pp. 418-421. D'après les travaux de différents auteurs, on peut distinguer diverses étapes successives de la détermination du cœur (Amphibiens Urodèles). Parmi les plus importantes, on note : l'apparition de cellules musculaires animées de contractions rythmiques (l'histogenèse est plus précocement déterminée que la morphogenèse), le groupement de ces cellules sous forme d'un tube creux, l'allongement et la coudure de ce tube, le cloisonnement en chambres par constrictions. L'organisation définitive n'apparaît enfin qu'avec le fonctionnement normal.

ture tubulaire elle-même, l'autre, d'ordre topographique, régularisant la disposition tubulaire caractéristique (*tubular pattern*). Les travaux très fouillés de Dalcq (1942) et Holtfreter (1944) confirment, en la précisant, cette conception (1). Seules, des cellules dotées de prédispositions spéciales peuvent édifier un pronéphros après avoir effectué des migrations et s'être réunies sur l'emplacement du futur pronéphros. Le blastème pronéphrétique ne manifeste pleinement ses aptitudes morphogénétiques que s'il est en position typique. Ces aptitudes s'atténuent ou s'altèrent après déplacement du blastème. Le blastème reçoit donc en position normale un stimulus particulier provenant de corrélations entre groupements cellulaires en contact. Ainsi s'établissent les diverses inductions régionales assurant la différenciation, la croissance, l'organisation des diverses parties du matériel pronéphrétique.

Nous avons précisément établi l'existence d'un mécanisme analogue pour le mésonéphros, et c'est d'ailleurs un type très général de processus morphogénétique.

L'unité morphogénétique des structures néphrétiques semble pouvoir être étendue au métanéphros des Amniotes. Gruenwald (1942, 1943) a montré, chez le Poulet, comme nous-même pour le mésonéphros des Amphibiens, que le matériel néphrogène présomptif est localisé dans l'espace d'une manière aussi stricte. L'inducteur normal du métanéphros est l'uretère secondaire bourgeonné par la partie terminale du canal de Wolff. La différenciation des blastèmes métanéphrétiques ne s'effectue qu'au contact de l'uretère secondaire. Fait remarquable : si, expérimentalement, le blastème métanéphrétique est stimulé par le canal de Wolff, et non par l'uretère, ce blastème s'organise en tubes *mésonéphrétiques* et cela à un stade très antérieur à celui auquel il se différencierait normalement en néphrons métanéphrétiques. Ceci suggère avec force que le blastème néphrogène, en général, possède presque ou complètement les mêmes potentialités, et que seul l'agent inducteur détermine la différenciation dans le sens méso- ou métanéphrétique. Pour Gruenwald, à la fois l'intensité et le moment de l'induction détermineraient le type de développement suivi. Une induction forte et précoce induirait le type mésonéphrétique « rapide », une induction faible et tardive le type métanéphrétique « lent ». Par de nombreuses observations cet auteur croit pouvoir étendre ces conceptions à la morphogenèse du rein humain.

On retrouve donc, pour le métanéphros, les processus généraux de la morphogenèse du pro- et surtout du mésonéphros : prédispositions néphrétiques du matériel cellulaire, situation topographique précise du blastème au contact de l'inducteur, rôle morphogénétique de ce dernier, et même réactivité à l'inducteur du mésonéphros.

Les travaux de Runner (1946) mettent l'accent sur l'importance des rapports topographiques sur la destinée des blastèmes néphrogènes : les blastèmes mésonéphrétiques du Rat greffés dans l'œil du même animal n'involuent pas, comme normalement, mais persistent plus longtemps et

(1) Nous examinons les facteurs de la morphogenèse du pronéphros des Amphibiens dans une mise au point spéciale (Cambar, 1948, *b*).

mieux développés. Le caractère fugace du mésonéphros des Amniotes serait ainsi dû à des facteurs extrinsèques, dont l'influence ne se manifeste qu'en position typique.

Ainsi, le matériel cellulaire néphrogène dans sa totalité (pronéphros, et surtout méso- et métanéphros) paraît doué originellement de potentialités très voisines sinon identiques. Il est organisé en structures néphrétiques différentes par des processus morphogénétiques de même type.

Les résultats de Gruenwald suggèrent une hypothèse séduisante. Pour cet auteur, en effet, la force de l'influx inducteur et le moment auquel ce dernier s'exerce encore plus que la qualité, détermineraient l'édification d'organes différents. La vérification de cette hypothèse renforcerait considérablement la conception d'unité morphogénétique qui se dégage de l'étude du développement du pro-, méso- et métanéphros. Bien qu'elle se fonde sur un certain nombre de faits positifs, il reste encore à effectuer des expériences précises, en particulier sur le pronéphros, avant qu'on puisse se prononcer définitivement.

RÉSUMÉ

Le présent travail a pour but l'étude des facteurs de la morphogenèse du mésonéphros des Amphibiens Anoures.

Nous avons d'abord recherché si le pronéphros possède, fonctionnel ou non, une influence sur le développement du mésonéphros, ainsi que l'affirment certains travaux antérieurs. L'étude du développement du mésonéphros après ablation uni- ou bilatérale du pronéphros, ou après suppression totale ou partielle, temporaire ou durable de la capacité fonctionnelle du pronéphros, a donné des résultats entièrement négatifs.

Le développement du mésonéphros est donc indépendant de la présence ou de la valeur physiologique du pronéphros.

Diverses observations ou résultats expérimentaux nous ont conduit à présumer que l'uretère primaire pouvait posséder une influence sur la morphogenèse du mésonéphros. Cette hypothèse fut expérimentalement vérifiée. Diverses opérations pratiquées précocement sur l'uretère primaire nous ont permis d'analyser le mode d'action inductrice préalablement décelé.

Ce mémoire comprend quatre parties distinctes :

1° La première partie est relative à la description du matériel et des méthodes employées, tant pour l'expérimentation que pour l'étude des résultats. La plupart des techniques opératoires décrites sont entièrement originales. Leur mise au point a nécessité la fabrication et l'emploi d'instruments particuliers. L'extension de l'utilisation de ces derniers nous paraît pouvoir grandement faciliter la microchirurgie générale du têtard.

2° Dans la seconde partie nous démontrons que le pronéphros n'exerce aucune influence sur le développement du mésonéphros

Nous avons pratiqué de nombreuses ablations uni- ou bilatérales du pro-

néphros, à des stades variés, chez diverses espèces d'Amphibiens (principalement chez *Rana dalmatina* et chez *Alytes obstetricans*). Après pronéphrectomie, les diverses étapes du développement du mésonéphros sont inaltérées, tant en ce qui concerne leur aspect que leur succession. En particulier, la taille des mésonéphros, mesurée chez de nombreux têtards opérés, est identique à celle des témoins (comparaison des croissances relatives).

Des expériences de transplantation du pronéphros ont fourni des résultats également négatifs.

Divers types d'expériences, destinées à restreindre ou supprimer la capacité fonctionnelle du pronéphros n'ont pas été décrites dans ce mémoire (elles feront l'objet d'un travail ultérieur).

3° La troisième partie apporte la preuve expérimentale que le canal de Wolff (uretère primaire) est l'agent inducteur essentiel de la morphogenèse du mésonéphros.

Après un rapide historique, nous décrivons les divers types d'expériences successivement pratiquées, et qui ont donné les résultats suivants :

a) L'ablation complète de l'uretère primaire inhibe totalement la formation du mésonéphros du côté opéré.

b) En l'absence de l'uretère primaire, les cellules mésonéphrogènes émigrent en position normale et se condensent en blastèmes, mais ces derniers restent de très petite taille et totalement indifférenciés. Aucune structure tubulaire n'apparaît.

c) S'il ne persiste, en position normale, qu'un fragment de l'uretère primaire, le mésonéphros subit une morphogenèse initiale normale uniquement en regard du fragment de conduit conservé.

d) Transportée dans les somites normalement non néphrogènes (entre pro- et mésonéphros) la partie wolffienne de l'uretère primaire est incapable d'induire la plus minime formation mésonéphrétique.

e) La totalité de l'uretère primaire, même la partie la plus voisine du pronéphros, possède un pouvoir inducteur sur la morphogenèse du mésonéphros.

f) Par déviation brusque ou graduelle de l'uretère primaire, nous démontrons que l'influence inductrice s'exerce par contact entre le conduit et les blastèmes mésonéphrétiques. Des données quantitatives sont apportées concernant l'extension maximum de ce pouvoir inducteur.

g) La greffe d'un uretère primaire le long d'un conduit fonctionnel normal ne modifie ni qualitativement, ni quantitativement la morphogenèse du mésonéphros placé du côté de l'opération. A la condition que l'influx inducteur atteigne sa valeur normale, les blastèmes mésonéphrétiques sont indifférents à toute augmentation de cet influx.

h) Seules les cellules de potentialités mésonéphrogènes sont aptes à subir l'influence inductrice de l'uretère primaire. Des greffes hétérotopiques du conduit au contact des cellules mésoblastiques n'ont provoqué la formation d'aucune structure mésonéphrétique différenciée, ni même d'aucune condensation cellulaire d'aspect néphrétique.

Les cellules des blastèmes mésonéphrétiques sont donc seules compétentes pour subir, au contact de l'uretère primaire, l'influence inductrice de

ce dernier, à savoir : différenciation et multiplication cellulaires, organisation tubulaire typique.

4° La quatrième partie est consacrée à la discussion générale des faits précédemment exposés, par nous-même et par divers auteurs. La conception d'unité morphogénétique du matériel néphrogène (pro-, méso- et métanéphros), suggérée par de nombreuses et récentes acquisitions expérimentales, est discutée et considérée avec faveur, bien que certains de ses aspects méritent confirmation expérimentale.

BIBLIOGRAPHIE

1929. Avel (M.). — Recherches expérimentales sur les caractères sexuels somatiques des Lombriciens. *Bull. Biol.*, **63**, 149-318.

1927. Boyden (E. A.). — Experimental obstruction of the mesonephric ducts. *Proc. Soc. exp. biol. med.*, **24**, 572-576.

1938. Burns (R. K.). — Development of the mesonephros in *Amblystoma* after early extirpation of the duct. *Proc. Soc. exp. biol. med.*, **39**, 111-113.

1942. Cambar (R.). — Procédé de fixation, lavage, inclusion de pièces histologiques très fragiles. *P. V. Soc. linn. Bordeaux*, octobre.

1943. Cambar (R.). — Technique d'ablation uni- ou bilatérale du pronéphros chez le têtard d'*Alytes obstetricans*. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*, **78**, 87-101.

1944 *a*. Cambar (R.). — Comportement des têtards de *Rana esculenta* privés de pronéphros dès leur sortie de l'œuf. *C. R. Soc. Biol.*, **138**, 579-581.

1944 *b*. Cambar (R.). — Effets de l'ablation du pronéphros chez le têtard d'*Alytes obstetricans*. *C. R. Soc. Biol.*, **138**, 588-589.

1944 *c*. Cambar (R.). — Technique de ligature de l'uretère primaire (canal de Wolff) chez le très jeune têtard de Grenouille. *P. V. Soc. Linn. Bordeaux*, juillet (non publié).

1947. *a*. Cambar (R.). — Début de fonctionnement du pronéphros chez l'embryon de Grenouille. *C. R. Soc. Biol.*, **141**, 752-754.

1947 *b*. Cambar (R.). — Détermination de la capacité fonctionnelle précoce du mésonéphros chez le têtard de Grenouille. *C. R. Soc. Biol.*, **141**, 760-761.

1947 *c*. Cambar (R.). — L'ablation précoce du pronéphros n'influence pas la morphogenèse du mésonéphros chez les larves d'Amphibiens Anoures. *C. R. Acad. Sci.*, **225**, 592-594.

1947 *d*. Cambar (R.). — Destinée du canal de Wolff après ablation précoce du pronéphros chez les larves d'Amphibiens Anoures. *C. R. Acad. Sci.*, **225**, 644-646.

1947 *e*. Cambar (R.). — Démonstration expérimentale du rôle inducteur du canal de Wolff dans la morphogenèse du mésonéphros, chez les Amphibiens Anoures. *C. R. Acad. Sci.*, **225**, 823-825.

1947 *f*. Cambar (R.). — Précisions expérimentales sur le mode d'action inductrice du canal de Wolff sur le mésonéphros des Amphibiens Anoures. *C. R. Acad. Sci.*, **225**, 895-897.

1947 *g*. Cambar (R.). — Nouvelle preuve expérimentale du rôle inducteur du canal de Wolff sur la morphogenèse du mésonéphros des Amphibiens Anoures. *C. R. Acad. Sci.*, **225**, 1019-1021.

1948 *a*. Cambar (R.). — La partie antérieure du canal de Wolff peut, expérimentalement, induire la morphogenèse du mésonéphros chez les Amphibiens Anoures. *R. C. Acad. Sci.*, **226**, 1542-1544.

1948 *b*. Cambar (R.). — Le développement du système pronéphrétique chez les Amphibiens (Anoures en particulier). *Année Biol.*, 42 pages dactylographiées (*sous presse*).

1942. Dalcq (A.). — Contribution à l'étude du potentiel morphogénétique chez les

Anoures. III. Opérations visant l'ébauche pronéphrétique au seuil de la gastrulation. *Arch. de Biol.*, **53**, 1-124.

1936. Fagiolo (Helena). — Ricerche sugli espianti del pronefro negli anfibi. *Atti R. Accad. Naz. Lincei*, **23**, 222-225.

1935. Fales (D. E.). — Experiments on the development of the pronephros of *Amblystoma punctatum*. *Journ. exp. Zool.*, **72** 147-173.

1932. Fauré-Frémiet (E.). — Involution expérimentale et tension de structure dans les cultures de *Ficulina ficus*. *Arch. Anat. Microsc.*, **28**, 121-157.

1906. Felix (W.). — Entwicklung des Harnapparates. *Hertwigs Hand. Vergl. u. Exp. Entw. der Wirbeltiere*, **3**, 81-427.

1944. Gallien (L.). — Recherches expérimentales sur l'organogenèse sexuelle chez les Batraciens Anoures. *Bull. Biol. France-Belgique*, **78**, 257-359.

1930. Gray (P.). — The development of the Amphibian kidney. Part. I. The development of the mesonephros of *Rana temporaria*. *Quart. Journ. microsc. Sc.*, **73**, 507-546.

1932. Gray (P.). — The development of the Amphibian kidney. Part. II. The development of the kidney of *Triton vulgaris* and a comparison of this form with *Rana temporaria*. *Quart. Journ. microsc. Sc.*, **75**, 425-465.

1937. Gruenwald (P.). — Zur Entwicklungsmechanik des Urogenitalsystems beim Hunh. *Roux Arch. Entw. Mech.*, **136**, 786-813.

1942. Gruenwald (P.). — Experiments on distribution and activation of the nephrogenic potency in the embryonic mesenchyme. *Physiol. Zool.*, **15**, 396-409.

1943. Gruenwald (P.). — Stimulation of nephrogenic tissue by normal and abnormal inductors. *Anat. Record.*, **86**, 321-329.

1904. Hall (R. W.). — The development of the mesonephros and the müllerian ducts in Amphibia. *Bull. Mus. comp. Zool. Harvard*, **45**, 31-125.

1931. Hiller (S.). — Étude expérimentale sur la structure et la fonction du pronéphros dans la parabiose. *C. R. Ass. Anat.*, **26**, 267-280.

1944. Holtfreter (J.). — Experimental studies on the development of the pronephros. *Rev. canad. de Biol.*, **3**, 220-250.

1945. Holtfreter (J.). — Differential inhibition of growth and differentiation by mechanical and chemical means. *Anat. Record*, **93**, 59-74.

1946. Holtfreter (J.). — Structure, motility and locomotion in isolated embryonic amphibian cells. *Journ. Morph.*, **79**, 27-62.

1947 *a*. Holtfreter (J.). — Observation on the migration, aggregation and phagocytosis on embryonic cells. *Journ. of Morph.*, **80**, 25-55.

1947. *b*. Holtfreter (J.). — Changes of structure and the kinetics of differentiating embryonic cells. *Journ. of Morph.*, **80**, 57-91.

1916. Howland (R. B.). — On the removal of the pronephros of amphibian embryos. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, **2**, 231-234.

1921. Howland (R. B.). — Experiments on the effects of removal of the pronephros of *Amblystoma punctatum*. *Journ. exp. Zool.*, **32**, 355-397.

1926. Howland (R. B.). — Regeneration of the segmental duct and experimental acceleration of growth of the mesonephros in *Amblystoma punctatum*. *Journ. exp. Zool.*, **44**, 327-353.

1928. Humphrey (R. R.). — The developmental potencies of the intermediate mesoderm of *Amblystoma* when transplanted into ventrolateral sites in others embryos : the primordial germ cells of such grafts and their role in the development of a gonad. *Anat. Record*, **40**, 67-90.

1918. Mc Clure (C. F. W.). — On the experimental production of edema in larval and adult Anura. *Journ. gen. Physiol.*, **1**, 261-267.

1929. Machemer (H.). — Differenzierungfähigkeit der Urnierenanlage von *Triton alpestris*. *Roux Arch. Entw. Mech.*, **118**, 200-251.

1934. Maschkowzeff (A.). — Entfernung, Transplantation und Entwicklung der Keimanlage des Pronephros *in vitro* bei *Siredon pisciformis* und *Rana temporaria*. *Zool. Jahrb. Abt. Zool. u. Physiol.*, **54**, 1-40.

1930. Miura (K.). — Experimentelle Untersuchungen über die genetische Beziehung zwischen dem Wolff'schen Gang und der Urniere bei Frosch-lar-

ven (Resektions versuch des Wolff'schen Gangs). *Jap. Journ. of med. Sc.*, **2**, 105-125.

1940 *a*. O'Connor (R. J.). — Experiments on the development of the Amphibian mesonephros. *Journ. of Anat.*, **74**, 34-44.

1940 *b*. O'Connor (R. J.). — The evolutionary significance of the embryology of the Amphibian nephric system. *Journ. of Anat.*, **75**, 95-100.

1946. Runner (M. N.). — The development of the mesonephros of the albino rat in intraocular grafts. *Journ. of exp. Zool.*, **103**, 305-317.

1930. *a*. Shimasaki (Y.). — Ueber den Einfluss der bilateralen Elimination der Vorniere auf den Gesamtorganismus der *Rana nigromaculata* Larve. *Jap. Journ. med. Sc.*, **2**, 257-268.

1930 *b*. Shimasaki (Y.). — Entwicklungsmechanische Untersuchung über die Urniere des Bufo. *Jap. Journ. med. Sc.*, **2**, 292-319.

1940. Shumway (W.). — Stages in the normal development of *Rana pipiens*. I. External forms. *Anat. Record*, **78**, 139-147.

1942. Shumway (W.). — *Id.* II. Identification of the stages from sectioned material. *Anat. Record*, **83**, 309-315.

1919. Swingle (W. W.). — The experimental production of edema by nephrectomy. *Journ. of gen. Physiol.*, **1**, 509-514.

1946. Van Geertruyden (J.). — Recherches expérimentales sur la formation du mésonéphros chez les Amphibiens Anoures. *Arch. de Biol.*, **57**, 145-181.

1937. Waddington (C. H.). — The morphogenetic function of a vestigial organ in the chick. *Journ. of exp. Biol.*, **15**, 371-376.

DEUXIÈME THÈSE

Données récentes sur la métamorphose des Insectes.

VU ET APPROUVÉ :
Paris, le 10 juin 1948.
Le Doyen de la Faculté des Sciences,
JEAN CABANNES.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
JEAN SARRAILH.

DÉPÔT LÉGAL : 1948, 4e TRIMESTRE, N° D'ORDRE 1.
BARNÉOUD FRÈRES ET Cie, IMPRIMEURS (31. 0566), LAVAL, N° 957 — 10-1948.

EXPLICATION PLANCHE I

Microphotographies n^os 1, 2 et 3.

Aspect de la région mésonéphrétique après ablation précoce unilatérale de l'uretère primaire et du pronéphros × 12.

1° 40 jours après l'ablation : *a*, du côté droit; *b*, du côté gauche; 2° 70 jours après l'ablation; 3° 130 jours après l'ablation (métamorphose terminée).

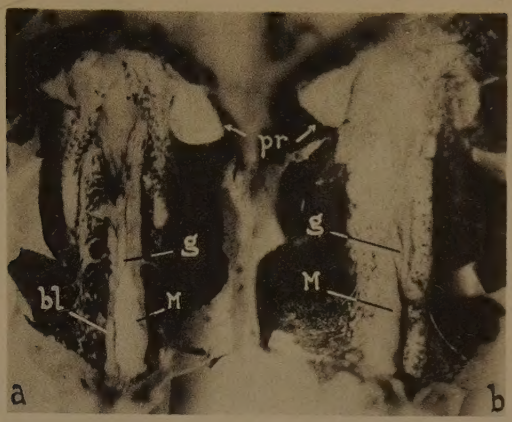
bl, blastème mésonéphrétique indifférencié; *g*, gonade; M, mésonéphros normal (côté non opéré); *pr*, pronéphros.

Microphotographies n^os 4 et 5.

Aspect de la région mésonéphrétique après ablation partielle unilatérale de l'uretère primaire : 4, opération à droite; 5, opération à gauche × 12.

Noter, du côté opéré, le développement du mésonéphros (*m*), uniquement au niveau où une portion d'uretère primaire a été conservée.

bl, blastème mésonéphrétique indifférencié (en l'absence d'uretère primaire); *g*, gonade; *m*, mésonéphros développé au niveau de la portion conservée d'uretère primaire; M, ménonéphros normal (côté non opéré); *pr*, pronéphros.



1

2

4

3

5

Cambar, phot. Phototypie G. Boüan

Différenciation du Mésonéphros des Batraciens